ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1974 — N° 78

LA CRYPTOCOCCOSE

Recherche de Cryptococcus Neoformans dans la Région Toulousaine.

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ETAT)

Présentée et soutenue publiquement en 1974

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

VIVIER Jean-Louis, Julien, Joseph

Né le 12 Avril 1948 à SAINT-SAULVE (Nord)

Jury :

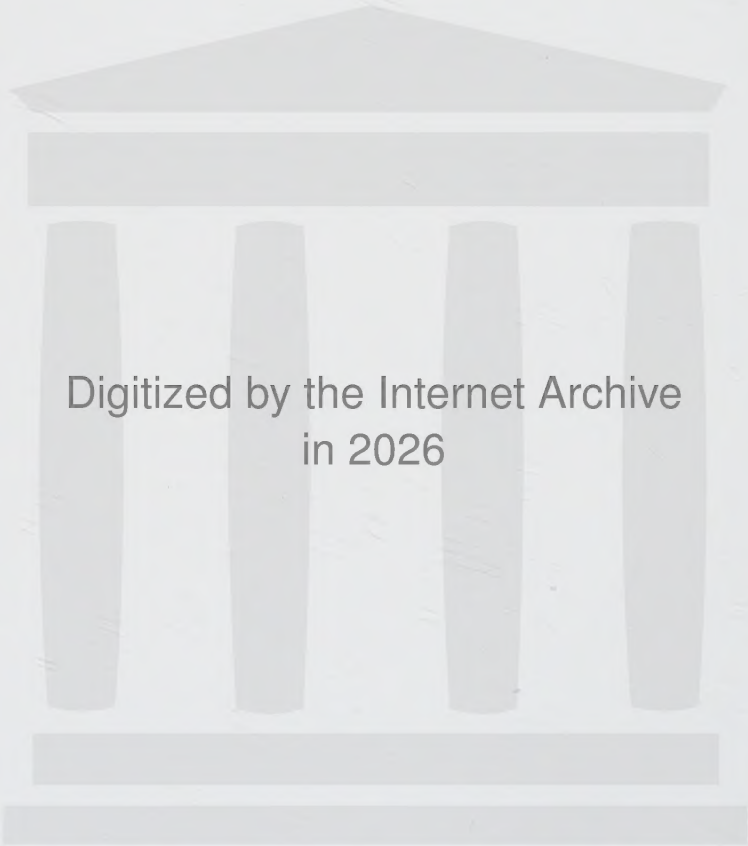
Président M. LARROUY, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. BRIZARD, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. DORCHIES, Maître de Conférence à l'Éc. Nat. Vét. de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6

1974


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549604_0066

LA CRYPTOCOCCOSE

Recherche de Cryptococcus Neoformans dans la Région Toulousaine.

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1974 — No 78

LA CRYPTOCOCCOSE

Recherche de Cryptococcus Neoformans dans la Région Toulousaine.

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ETAT)

Présentée et soutenue publiquement en 1974

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

VIVIER Jean-Louis, Julien, Joseph

Né le 12 Avril 1948 à SAINT-SAULVE (Nord)

Jury :

Président M. LARROUY, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. BRIZARD, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. DORCHIES, Maitre de Conférence à l'Éc. Nat. Vét. de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6

1974

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

DIRECTEUR ..... MM. LAUTIÉ
DIRECTEURS HONORAIRES ..... PONS, DARRASPEN, FLORIO, LOMBARD
PROFESSEUR HONORAIRE .....

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie.
Professeur titulaire ..... M. **Godfrain**
Maître-Assistant agrégé ..... Mme **Burgat-Sacaze**

Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales.
Professeur titulaire ..... M. **Rico**
Maître-Assistant ..... M. **Braun**

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.
Professeur titulaire ..... M. **Pavaux**

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique.
Professeur titulaire ..... MM. **Ruckebusch**
Maître de Conférences, non Chef de Service ..... **Fargeas**
Maître-Assistant ..... **Toutain**

Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique.
Professeur titulaire ..... MM. **Van Haverbeke**
Professeur sans Chaire ..... **Cabanié**
Maître-Assistant ..... **Magnol**

Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.
Professeur titulaire ..... MM. **Labie**
Maître-Assistant ..... **Eeckhoutte**
Maître-Assistant ..... Mme **Bénard**

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des Denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires.
Professeur titulaire ..... MM. **Brizard**
Maître de Conférences, non Chef de Service ..... **Dorchies**

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores.
Professeur titulaire ..... MM. **Florio**
Professeur sans Chaire ..... **Lescure**
Maître-Assistant ..... **Guelfi**

Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.
Professeur titulaire ..... MM. **Tournut**
Professeur sans Chaire ..... **Espinasse**
Maître-Assistant ..... **Bézille**

Séméiologie et Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale.
Professeur titulaire ..... MM. **Cazieux**
Maître-Assistant ..... **Dickelé**
Maître-Assistant ..... **Genevois**

Propédeutique et Séméiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

Chaire de Pathologie de la Reproduction.
Professeur titulaire ..... MM. **Berthelon**
Professeur sans Chaire ..... **Royal**
Maître-Assistant ..... **Tainturier**

Séméiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses Législation Sanitaire.
Professeur titulaire ..... MM. **Saurat**
Maître de Conférences, non Chef de Service ..... **Chantal**
Maître-Assistant ..... M. **Ganière**

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

Chaire de Pathologie générale - Microbiologie Immunologie.
Professeur titulaire ..... MM. **Lautié**
Maître-Assistant ..... **Meignier**

Microbiologie - Immunologie - Pathologie générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale.
Professeur titulaire ..... MM. **Queinnec**
Maître-Assistant ..... **Darre**

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale
Zootechnie - Elevage
Economie générale et des Productions animales

Chaire d'Alimentation.
Professeur titulaire ..... M. **Fallu**
Professeur sans Chaire..... **Griess**
Maître-Assistant ..... **Paragon**

Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses ..... MM. **Monnier**
Aspect médical des Zoonoses ..... **Armengaud**
Energétique ..... **Labouche**
Initiation à l'Informatique Biomédicale ..... **Fernet**
Agronomie ..... **Combret**
Métabolisme ..... **Raynaud**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats.
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924)

UNIV. LEIDEN BIBL.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

Pour toute sa tendresse.

A REGINE, mon épouse

A TOUS LES MIENS

A MES MAITRES

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur LARROUY

de l'Université Paul Sabatier, de Toulouse

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre Jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur BRIZARD

de l'Ecole Nationale Vétérinaire, de Toulouse

Qui nous accorda sa confiance et nous permit de réaliser ce travail.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Monsieur DORCHIES

Maître de Conférence

Qui nous suggéra le sujet et nous prodigua sans se lasser les avis et les conseils d'un maître sûr et dévoué.

En témoignage de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : **LA CRYPTOCOCCOSE**

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

DEFINITION

HISTORIQUE

EPIDEMIOLOGIE

ETIOLOGIE

I. — **ETUDE DE LA LEVURE**

1) Taxonomie

2) Morphologie

— Microscopie optique
— Microscopie électronique
— Constitution de la capsule

3) Cultures

4) Biochimie

II. — **LES HOTES**

1) Facteurs de réceptivité

2) Facteurs de sensibilité

— Propres à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS
— Propres à l'indivisu

III. — **MODALITES DE L'INFESTATION**

1) Sources du parasite

— le sol
— les plantes
— les animaux

2) Modes d'infestation

3) Conditions favorisantes

IV. — **POUVOIR TOXIQUE**

V. — **POUVOIR ANTIGENE ET IMMUNISANT**

PATHOGENIE

I. — **VIRULENCE**

II. — **POUVOIR PATHOGENE**

— Expérimental
— Spontané

MANIFESTATIONS CLINIQUES

I. — **SIGNES GENERAUX**

II. — **SIGNES LOCAUX**

1) La cryptococcose du système nerveux central
2) La cryptococcose respiratoire
3) La mammite cryptococcique
4) Autres formes viscérales
5) Localisations cutanéo muqueuses

EVOLUTION

LESION

I. — **ASPECT MACROSCOPIQUE**
II. — **VOIES DE DISSEMINATION**
III. — **ASPECT HISTOPATHOLOGIQUE**
IV. — **MODALITES DES REACTIONS TISSULAIRES**

DIAGNOSTIC

I. — **EPIDEMIOLOGIQUE**

II. — **CLINIQUE**

III. — **EXPERIMENTAL**

1) Prélèvements

2) Examen direct

3) Cultures

4) Biochimie

5) Inoculation à la souris

IV. — **IMMUNOLOGIQUE**

1) Sérologie

2) Tests cutanés

V. — **DIFFERENTIEL**

PRONOSTIC

TRAITEMENT

I. — **CRYPTOCOCCOSE CUTANEO-MUQUEUSE**

II. — **CRYPTOCOCCOSE RESPIRATOIRE**

III. — **MAMMITE CRYPTOCOCCIQUE**

IV. — **CRYPTOCOCCOSE DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL**

1) L'amphotéricine B

2) 5 fluoro-cytosine

PROPHYLAXIE

I. — **MEDICALE**

II. — **SANITAIRE**

DEUXIEME PARTIE : **TRAVAUX PERSONNELS**

ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE DANS LA REGION TOULOUSAINE

INTRODUCTION

MATERIEL ET METHODE

I. — **LIEUX ET NATURE DES PRELEVEMNTS**

II. — **MODE DE PRELEVEMNT**

III. — **MISE EN CULTURE**

RESULTATS

DISCUSSION DES RESULTATS

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

La cryptococcose est une maladie rare. En 1957, AJELLO (2) avait dénombré dans la littérature mondiale 219 cas publiés entre 1894 et 1957. De 1894 à 1955, GRASSET rapportait 506 cas humains, dont 39 en FRANCE.

Ces résultats sont sans doute bien inférieurs à la réalité, car elle est de diagnostic difficile. Elle a été responsable, en 1966, aux ETATS-UNIS de 22 % des décès par mycose profonde, prenant ainsi la seconde place après l'histoplasmose. Au C.H.U. de TOULOUSE, 3 cas de cryptococcose ont été diagnostiqués.

Des auteurs, Américains surtout, ont montré l'infestation des pigeons par l'agent de la maladie et ont constaté dans certains cas son importance épidémiologique.

Dans la première partie nous avons fait une revue bibliographique de la maladie, dans la seconde, nous rapportons les résultats obtenus dans la recherche de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans les fientes de pigeons de la région toulousaine.

PREMIERE PARIE :

LA CRYPTOCOCCOSE - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

DEFINITION

La cryptococcose est une anthropozoonose majeure, sporadique, ubiquitaire, causée par une levure saprophyte appartenant à la famille des CRYPTOCOCCEAE, CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Cette levurose, évoluant d'une manière subaiguë ou chronique, atteint électivement l'appareil respiratoire, le système nerveux central et le revêtement cutané des mammifères. Les oiseaux, et tout particulièrement les pigeons, semblent jouer un rôle important dans la survie et la multiplication de cet organisme.

Le traitement, encore incertain en médecine vétérinaire, entraîne un pronostic assez sombre.

HISTORIQUE

L'histoire de cette levure est remarquable, car les caractéristiques biochimiques déterminées tardivement, ont donné lieu à une foule de synonymes. Elle est trouvée avec une égale fréquence dès la fin du 19^{e} siècle, en médecine vétérinaire et humaine.

BUSSE (14), le 7 juillet 1894, décrit en ALLEMAGNE, devant la Société Médicale de GRIEFSWALD, l'observation

d'une levure capsulée obetenue à partir d'une lésion de type sarcomateux du tibia d'une femme. Il fait simplement allusion au genre SACCHAROMYCES.

BUSCHKE (13), l'année suivante, précise les symptômes et cultive ce champignon à partir des lésions cutanées.

Cette souche ainsi conservée est étudiée par différents mycologues :

— BENHAM en 1934

— LODDER en 1934

— GIORDANO en 1939

SAN FELICE (65), la même année, en SARDAIGNE, trouve un organisme du type levure à partir d'un jus de pèche fermenté. Il l'appelle SACCHAROMYCES NEOFORMANS, car en reproduisant la maladie chez les animaux, il constate l'apparition de tumeurs.

VUILLEMIN (84), en 1901, nomme l'organisme isolé par BUSSE, CRYPTOCOCCUS HOMINIS. Il classe celui de SAN FELICE dans le même genre en tant que CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

La première observation de cryptococcose nerveuse est celle de CURTIS (1895 - 1896) sur un jeune Français au TONKIN (77).

SAN FELICE (in 69), en 1901, signale la présence de cet organisme dans les ganglions lymphatiques d'un bovin. C'est le premier isolement obtenu à partir des animaux.

L'année suivante, FROTHINGHAM (31) signale ce champignon dans des lésions pulmonaires de type mycosique chez un cheval.

GOTTI et BRAZZOLA (33), en ITALIE, isolent une levure identique d'une tumeur myxomateuse de la cavité nasale d'une vache.

SCHELLNER (67), en ALLEMAGNE, isole en 1905, des granulomes mycosiques des cavités nasales d'un cheval.

MEYER (in 69), en 1912, retrouve le même organisme dans une prolifération nasale à allure de myxone chez un cheval de PENSYLVANIE. Il nomme ce microorganisme TORULA NASALIS, d'où le nom aussi donné à la maladie : la torulose.

KIKUCHI (42), en 1913, retrouve cette levure qui se révèle particulièrement pathogène pour la souris et à un degré moindre pour le cobaye.

STODDARD et CUTTLER, en 1916, groupent différentes observations et individualisent la maladie sur le plan clinique, anatomique et microbiologique : ils le décrivent aussi sous le nom de torulose.

KLEIN, en 1901, l'isole dans le lait de consommation courante et dans le beurre.

ROLLE, en ALLEMAGNE, en 1934, reconnaît ces levures comme responsables de mammites bovines. Il rapporte 5 cas d'infection.

CARTER et YOUNG ,15), en 1950, l'isolent à partir du lait.

En 1951, EMMONS (26), aux ETATS-UNIS, après une étude longue de quatre années, publie un rapport portant sur 716 échantillons de sols de fermes. Il ressort que les quatre souches isolées s'avèrent très voisines des souches pathogènes obtenues à partir du liquide céphalo-rachidien de méningites cryptococciques humaines; ces souches sont retrouvées très fréquemment dans les vieux nids, les fientes, les endroits souillés par les pigeons.

Il démontre le premier (27), en 1955, que la fréquence de l'isolement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est nettement augmentée lorsqu'on recueille les échantillons dans des lieux fréquentés par des pigeons.

Cette observation sera d'ailleurs confirmée durant la décennie suivante dans de nombreuses régions du globe.

EPIDEMIOLOGIE

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est un champignon cosmopolite.

Que ce soit sous forme saprophyte ou pathogène, il est trouvé avec une relative fréquence dans les deux hémisphères terrestres :

— AMERIQUE DU NORD :

EMMONS et AJELLO le mettent en évidence à partir du sol et de fientes de pigeons.

HOLWORTH (35), SIEBOLD le montrent chez les animaux où elle se révèle pathogène.

— AMERIQUE DU SUD :

MIRA (53) le retrouve à l'état saprophytique en COLOMBIE.

PENA (55), en COLOMBIE, montre que 3 % des mycoses profondes humaines du système nerveux central sont dues à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

— ASIE :

KRASNIKOV (43), en U.R.S.S. et TAYLOR (80) en THAILANDE le montrent d'une part dans la flore et les récoltes des champs et d'autre part dans les fientes d'oiseaux.

Au TONKIN (1895 - 1896), CURTIS isole une souche qui est conservée jusqu'à nos jours.

Il est montré aussi au JAPON sur des chevaux.

— AFRIQUE :

KCHOUK (41), en 1971, isole la première souche tunisienne de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

MARTIN (52), le décrit chez un jeune noir où il se traduit par une mycose généralisée, à prédominance méningée.

— EUROPE :

BOHM (8) le retrouve dans les squares d'HANOVRE fréquentés par les pigeons.

MANTOVANI (51) l'isole de la même manière en ITALIE.

THERY (81) le met en évidence des ganglions prescapulaires d'un chat où cette adénite chronique évolue par poussées successives.

LABIE (69) et SEGRETAIN constatent qu'il est l'agent d'une mammite subaiguë.

— AUSTRALIE :

BOLLIGER (9) et FLINK ont prouvé que la cryptococcose sévit à l'état endemique chez les koalas qui pour les auteurs semblent constituer un important « réservoir à virus ». Cela peut aussi expliquer la relative fréquence de la cryptococcose chez les arboricales de ce continent.

Certains auteurs l'ont trouvé fréquemment dans les fientes de pigeons. C'est pouquoi WALTER et ATCHISON, en 1966, ont recherché l'influence épidémiologique du pigeon. Ils pratiquèrent chez 134 éleveurs de pigeons et chez 36 personnes témoins des tests de fixation du complément et des tests d'immunofluorescence : 22 % des sujets du premier groupe eurent des tests positifs contre 3 % dans le groupe témoin.

La cryptococcose sévit sporadiquement, sauf chez les vaches laitières où elle apparaît comme une mammite enzootique.

AJELLO (2) a réuni les résultats des auteurs ayant découvert CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS chez les animaux domestiques et capturés jusqu'en 1958.

Espèces	Nombre de cas	PAYS
BOVINS	186	ITALIE : 27 — SAN FELICE, GALLI. ETATS-UNIS : 158 — MADSEN, POUNDEN, EMMONS, SIMON, BARON. ANGLETERRE : 1 — AINSWORTH.
CHEVAUX	10	ITALIE : 1 — GOTTI et BRAZZOLA. ALLEMAGNE : 1 — SCHELLNER. JAPON : 1 — KIKUCHI. ETATS-UNIS : 7 — FROTHINGHAM, MEYER,WILE, Mc GRATH, AJELLO.
CHIENS	6	CANADA : 1 — SMITH. ETATS-UNIS : 5 — SEIBOLD, BARRON, Mc GRATH.
CHATS	5	ETATS-UNIS : 5 — HOLZWORTH, Mc GRATH.
OUISTITIS	2	ETATS-UNIS : 2 — WEIDMAN, SAUNDERS.
PORCS	2	ITALIE : 1 — SAN FELICE. FRANCE : 1 — VUILLEMIN.
LEOPARDS	2	ETATS-UNIS : 2 — WEIDMAN, SAUNDERS.
COBAYES	2	ITALIE : 1 — MAFFUCCI. FRANCE : 1 — DEZEST.
CIVETTE PALMEE	1	ETATS-UNIS : 1 — EYESTONE.
FURET	1	ANGLETERRE : 1 — SKULSKI.
SCARABEE	1	ETATS-UNIS : 1 — SHIFRINE.

Depuis cette mise au point d'AJELLO, d'autres cas de cryptococcose ont été décrits par différents auteurs.

Dans toutes les espèces elle apparaît comme une maladie sporadique non contagieuse entre animaux d'espèces homologues et hétérologues, sauf chez les laitières où elle sévit enzootiquement.

SIMON et ses collaborateurs (73), en 1953, rapportent 50 cas de mammite cryptococcique dans le WISCONSIN, apparaissant 4 à 8 semaines après l'accouchement dans un cheptel de 280 laitières.

Dans le MARYLAND, en une année, 106 cas de mammite cryptococcique apparurent dans un cheptel de 235 Frisonne Holstein.

GALLI (32) décrit une enzootie de mammite en ITALIE, atteignant 26 vaches laitières.

LABIE et SEGRETAIN (69), en 1955, décrivent deux cas de cryptococcose mammaire, dans une étable, dont une évoluant sous forme subclinique.

ETIOLOGIE

I. — ETUDE DE LA LEVURE

1) Taxonomie

Peu d'organismes ont reçu autant de noms différents.

LODDER en a recensé 32, encore utilisés dans certaines revues.

— SACCHAROMYCES NEOFORMANS - SAN FELICE 1895.
— TORULA NEOFORMANS - (SAN FELICE), WEISS 1902.
— BLASTOMYCES NEOFORMANS - (SAN FELICE), ARTZ 1924.

— TORULOPSIS NEOFORMANS - (SAN FELICE), REDAELLI 1931.

— DEBAROMYCES NEOFORMANS - (SAN FELICE), REDAELLI, CIF et GIORDANO 1937.

— SACCHAROMYCES LITHOGENES - (SAN FELICE), SAN FELICE 1895.

— CRYPTOCOCCUS LITHOGENES - (SAN FELICE), VUILLEMIN 1901.

— BLASTOMYCES LITHOGENES - (SAN FELICE), SASAKAWA 1922.

— TORULOPSIS LITHOGENES - (SAN FELICE), de ALMEIDA 1933.

— CRYPTOCOCCUS HOMINIS - VUILLEMIN 1901.

— ATELOSACCHAROMYCES HOMINIS - (VUILLEMIN), VERDUN 1912.

— TORULOPSIS HOMINIS - (VUILLEMIN), REDAELLI 1931.

— DEBAROMYCES HOMINIS - (VUILLEMIN), TODD et HERMANN 1936.

— SACCHAROMYCES HOMINIS - CONSTANTIN 1901.

— CRYPTOCOCCUS HOMINIS - FROILANO de MELLO et GONZAGA FERNANDES 1918.

— TORULOPSIS CONTANTINI - F. de MELLO et G., FERNANDES, de ALMEIDA 1933.

— SACCHAROMYCES PLIMMERI - CONTANTIN 1901.

— TORULA PLIMMERI - (CONSTANTIN), WEISS 1902.

— CRYPTOCOCCUS PLIMMERI - (CONSTANTIN), de ALMEIDA 1933.

— TORULA KLEIN - WEISS 1902.

— CRYPTOCOCCUS KLEIN - (WEISS), COHN 1904, APUD GUEGEN 1904.

— ATELOSACCHAROMYCES - BUSSE - BUSCHLIDE, BEURMANN et GONGEROT 1903.

— SACCHAROMYCESBLANCHARDI - GUIART 1910.

— ATELOSACCHAROMYCES BREWERI - VERDUN 1912

— CRYPTOCOCCUS BREWERI - (VERDUN), NEVEU, LEMAIRE 1921.

— TORULOPSIS BREWERI - (VERDUN), de ALMEIDA.

— TORULA HISTOLYTICA - STODDART et CUTTLER 1916.

— TORULOPSIS HISTOLYTICA - (STODDART et CUTTLER), CASTELLANI et JACONO 1933.

— CRYPTOCOCCUS CEREBRILOCULOSUS - FREEMAN et WEIDMAN 1923.

— TORULA NASALIS - HARRISEN 1928.

— CRYPTOCOCCUS NASALIS - (HARRISEN), CW DODGE.

— CRYPTOCOCCUS HONDURIANUS - CASTELLANI 1923, (CASTELLANI et JACONO 1933).

Le nom TORULA, fréquemment employé, fut abandonné car il s'applique à des champignons très différents filamenteux, et dont certaines espèces peuvent être pathogènes.

STODDART et CUTTLER (1916) en vulgarisant le terme de TORULA et de TORULOSE donnent au germe le nom de TORULA HISTOLYTICA, doublement facheux, puisqu'il n'a jamais été possible de mettre en évidence des propriétés histolytiques.

SASAKAWA (1922) dénomme la souche de SAN FELICE : BLASTOMYCES LITHOGENES, mais ARTZ (1924) transforme cette appellation en BLASTOMYCES NEOFORMANS, d'où le nom de BLASTOMYCOSE EUROPEENNE, longtemps donné à la crpytococcose.

Dès 1950 les auteurs séparent le genre TORULOPSIS et CRYPTOCOCCUS qui avaient été longtemps synonymes.

C'est SKINNER, en 1950, qui institue que le nom valable pour cette levure est CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, (SAN FELICE), VUILIEMIN 1901, sur la base de la priorité et des différences fondamentales entre les membres des genres CRYPTOCOCCUS et TORULOPSIS.

LODDER et KREGER VAN RIJ, en 1952, donnèrent un schéma de classification, modifié par ANSEL et GAUTHIER en 1954, qui définit la position taxonomique de ce champignon, grâce à ce tableau suivant :

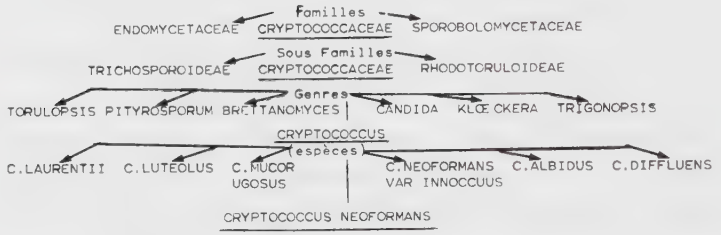
Classification des levures de LODDER et KREGER VAN RIJ :

Classe des HYPHOMYCETES

Sous classe des THALLOSPORINA

Ordre des THALLOSPORALES

Super Famille des BLASTOSPORACEAE



2) **Morphologie**

— MICROSCOPIE OPTIQUE

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS peut être obtenu, soit à partir de liquides pathologiques, soit à partir d'une culture : étalés entre lame et lamelle et colorés à l'encre de Chine diluée au 1/3 montrent des éléments lévuriformes isolés, par paire, plus rarement massés par petits groupes, arrondis ou ovalaires, et globuleux. La capsule, constituée essentiellement de muco-polysaccharides, est visualisée grâce à la coloration à l'encre de Chine. Elle est plus ou moins développée autour de la cellule, étant même parfois absente. Elle est habituellement plus nette sur les éléments prélevés in vivo et d'autant plus visible sur les éléments prélevés in vitro, que la culture est plus vieille et qu'il y a du maltose dans le milieu.

Sa taille est très variable, étant habituellement de 4 à 7 microns. mais parfois de 2 à 20 microns et même parfois plus. Dans le cytoplasme apparaissent des granulations réfringentes et des vacuoles lipidiques. CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS aurait une structure plus sphérique et un cytoplasme plus granuleux que les espèces non pathogènes de cryptocoques.

BULMER (10), en 1967, a obtenu des souches mutantes non capsulées à partir de souches capsulées de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Cette levure est fréquemment bourgeonnante; la reproduction se fait suivant le mode asexué par blastospores, par segmentation multiple. Parfois il peut se produire un bourgeonnement multilatéral minant BLASTOMYCES BRASILIENSIS.

Ni filaments, ni pseudo filaments ne se forment en culture. Parfois un pseudomycelium rudimentaire peut se constituer.

LURIE (50) et ses collaborateurs montrent cependant en 1971 que certaines souches peuvent produire de véritables hyphes caractérisés par des ramifications et des septums. Mais ce n'est pas la règle.

— MICROCOPIE ELECTRONIQUE (19)

La capsule est parfois plus épaisse que la cellule elle-même. Elle se compose, soit de microfibulles entrelacées ou collées, soit de particules en forme de point; le type de point apparaît avec ou sans filament, du type cils rayonnants à partir de la paroi cellulaire vers la périphérie; ces fibrilles de structure uniforme semblent représenter les molécules polysaccharidiques complexes (25).

Une zone claire sépare fréquemment la capsule de la membrane cellulaire qui est dense aux électrons. Elle semble être composée de multiples couches parallèles d'étuis membraneux fins contenant une zone intérieure sombre et épaisse.

La membrane nucléaire, claire, présente plusieurs discontinuités qui sont les pores nucléaires. Le matériel de chromatine n'apparaît pas, il est disséminé dans le noyau.

Les mitochondries sont normales en taille et en aspect. Des granules lipidiques et glycogéniques apparaissent. Les vacuoles existent en grand nombre. Les ribosomes, ainsi que le reticulum endoplasmique, sont bien visibles.

— CONSTITUTION DE LA CAPSULE

La composition biochimique de cette capsule se révèle importante, car elle conditionnerait, selon DROUHET et SEGRETAIN, le pouvoir toxique de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

ASCHNER, MAYER et LEIBOWITZ (in 34), dès 1945, avaient reconnu l'existence de deux substances polysaccharidiques qui étaient synthétisées dans un milieu constitué de sulfate d'ammonium, de glucose et de thiamine.

DROUHET et SEGRETAIN (21), en 1950, avaient étudié ce polyoside capsulaire par hydrolise à chaud et par analyse chromatographique. Il est constitué de xylose, de mannose et d'acide uronique lié au mannose sous forme d'aldobionate. Très visqueuse en solution, sa production est favorisée par la présence dans le milieu de maltose et de composés nitrés.

3) **Cultures** (48)

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, aérobie strict, pousse en 48 heures, sur milieu solide, gélose de SABOURAUD ou gélose maltée de 26 °C ou 37 °C.

— En milieu solide : milieu d'épreuve de SABOURAUD. Le développement est rapide; au bout de 48 heures se forment des colonies de surface brillante et plane, de forme ronde, de couleur blanc-crème, à bords arrondis et réguliers, d'aspect opaque, de consistance muquese. Aves le vieillissement elles prennent une teinte légèrement plus foncée. Il n'y a pas de développement de mycelium.

— En milieu liquide : la croissance est plus lente (3 semaines environ) et limitée au début à la formation d'un anneau. Puis de petits flocons sédimentent. Dans de vieilles cultures des ilots ou parfois un voile peut se former.

L'incubltion à 26 °C, puis à 37 °C permet le dévelloppement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, à l'exclusion des autres espèces non pathogènes.

Pour les incubations à 37 °C, on préférera une gélose au sang, avec extraits de cœur et de cerveau, ou la gélose au sang glucosée de LITTMAN, enrichie au foie et à la rate. Les colonies apparaissent généralement en 24 heures.

En bouillon de cœur ou de cerveau et à la température du laboratoire, le développement est beaucoup plus long.

Tout récemment, de meilleurs résultats ont été obtenus par culture de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS sur des fibroblastes de souris.

En 1966, STAIB (75) propose un milieu sélectif pour l'isolement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS des matières fécales et du sol; sur milieu « GUIZOTIA ABYSSINICA - créatinine » les colonies sont d'abord colorées en ocre puis en brun.

Mais en 1969, KAPICA (38) réalise un nouveau milieu coloré à base de pomme de terre et carottes qui colore en ocre brun les colonies et permet un isolement rapide.

Enfin, en 1971, DOLAN (18) prépare un milieu sélectif nouveau qui réduit de trois à quatre jours le délai d'identification du CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, au lieu de sept à vingt-quatre jours pour le classique milieu de STAIB.

Certains milieux particuliers peuvent favoriser la formation des capsules, s'ils sont enrichis en saccharose, maltose, vitamines, acide glutamique, valine, tryptophane et surtout (16) l'hydrolysat de lactalhumine, l'extrait desséché de matière cérébrale et le sérum de bœuf.

4) **Biochimie**

Le genre CRYPTOCOCCUS comprend 21 espèces qui présentent les caractéristiques d'assimilation variables.

La seule espèce pathogène, CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, présente les caractères auxonographiques suivants :

— Auxanogramme de l'azote : l'utilisation des composants azotés est très variable, le nitrate et nitrite de potassium ne sont pas utilisés; par contre, l'azote du sulfate d'ammonium est utilisé.

L'institut botanique de l'Université de LISBONNE testa l'assimilation de 14 amides, 8 amines et 7 autres composants azotés comme source simple d'azote. CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS les utilisa ainsi :

AMIDES		AMINES		AUTRES COMPOSANTS AZOTES	
Acétamide	+	Méthylamine	+	Créatine	+
Propionamide	+		→	Créatinine	+
Acrylamide	+	Éthylamine	+ →	Taurine	+ →
Malonamide	+	Ethyldiamine	—		
N Butyramide	+	Triméthylamine	—	Succinimide	+
Isobutyramide	+	Phénylemédiamine	—	Acétoxine	—
N hexoamide	+	Tri éthylamine	—	Hydragine	—
Benzamide	—	Isopropanolamine	—	Formaldoxine	—
Salicylamide	—	Glucosamine	—		
Succinamide	—				
N valeriamide	—				
Adipamide	+ →				
Nicotamide	+ →				
Allantoine	+				
Urée	+				

STAIB (70) montre en outre l'utilisation de l'acide urique et des purines.

Comme CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, hydrolyse l'urée, le test à l'uréase est positif.

— Auxanogramme du carbonne

Glucose	+	Amidon soluble (peu)	+ —	Erythritol	+ —
L Sorbose	+ ou —	D. Xylose	+	Ribitol	+
Galactose	+	L. Arabinose (parfois peu ou —)	+	Galactisol	+
Sucrose	+			D. Mannitol	+
Maltose	+	D. Arabinose (parfois latent)	+	D. Glucitol	+
Cellobiose (parfois peu)	+			Méthil D. Glucoside	+
Tréhalose	+	L. rhamnose (rarement peu)	+	DL Ac lactique ou peu	+ —
Lactose	—	D. ribose (parfois peu)	+	Ac succinique	+ —
Mélibiose	—			Ac citrique	+ —
Raffinose (parfois peu)	+	Glycérol (rarement peu)	—	Inositol	+
Melexitoze				Glucono S lactose	+
Inuline	—			2 Hetogluconate	+
				5 Hetogluconate	+

— Fermentation alcoolique : très discutée.

MAROVITZ, en 1966, qui par des techniques très fines, telles que la chromatographie en phase gazeuse et l'enzymologie, montra que d'infimes quantités d'éthanol sont formées de sorte que certains auteurs considèrent cette production comme très spécifique, tandis que d'autres la nient.

— Aptitude à l'amylogénèse : sur certains milieux il y a production de polysaccharides apparentés à l'amidon : épreuve d'ASCHNER positive.

— Aptitude à dissocier l'arbutine : épreuve de l'arbutine faiblement positive.

— Croissance à 37 °C : bonne.

— Liquéfaction de la gélatine : absente.

— L'acditione inhibe son développement et le tue à la dose de 0,5 micron g/ml.

Si les besoins de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS sont très bien connus dans les conditions expérimentales, ils le sont peu à l'état naturel.

STAIB a montré, en 1962, la présence constante de créatinine dans les fientes de pigeon, donc dans le fumier, qui se comporte comme un milieu d'enrichissement. Il affirme que seul CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS l'utilise.

LODDER a cependant démontré que CRYPTOCOCCUS LAURENTII CRYPTOCOCCUS ALBIDUS, CRYPTOCOCCUS GASTRICUS peuvent aussi l'assimiler, bien qu'eux ne soient pas retrouvés avec fréquence dans les fientes de pigeons.

II. — **LES HOTES**

1) **Facteurs de réceptivité**

Parmi les Oiseaux, seul le pigeon semble hautement réceptif. Il l'héberge dans son tractus digestif. En effet, FRAGNER, en 1968, ne retrouve CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS que chez le pigeon, après l'étude de 15 habitats d'oiseaux différents. D'autres auteurs ont aussi isolé CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS de nids de coucous et de parquets où vivaient des poules, mais avec une fréquence bien moindre.

Les Mammifères semblent très peu réceptifs à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. SAEZ (in 81) l'a isolé du poumon de Mammifères de ménagerie, bien que la levure ne semble jouer, à ce moment là, aucun rôle pathogène.

La comparaison de la flore fungique intestinale des oiseaux et des mammifères et de l'homme ne montre pas de flore fécale spécifique. Certaines conditions semblent cependant plus favorables dans les fientes d'oiseaux pour certaines espèces de levures, dont CRYPTOCOCCUS (68).

2) **Facteurs de sensibilité**

— Propre à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

BAKER et SALFELDER (4) ont étudié l'effet de l'infection cryptococcique sur les tissus. Les modolités de la réponse tissulaire dépendent de la souche.

DROUET et SEGRETAIN (23), à partir d'une souche du type S provenant d'un malade atteint de méningoencephalite, obtiennent une souche du type M. La première souche faiblement capsulée injectée par voie intrapéritonéale à un lot de souris laisse un temps de survie moyen de 24 jours, tandis que la souche mutante injectée à la même dose et par la même voie un temps de 7 jours.

— De la virulence propre de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS : BULMER, SANS et GUN (11) (12), ont montré que certaines souches présentaient une virulence différente, selon leur degré d'encapsulement.

— De la quantité de levure contenue dans la dose infectante; dans les conditions expérimentales, plus la dose de cellules injectées est importante, plus le délai de survie est bref.

— De la vitesse de multiplication : elle semble étroitement liée à l'aptitude qu'ont les leucocytes de phagocyter une souche donnée.

— Propres à l'individu :

— L'espèce : Les Oiseaux sont insensibles comme l ont montré WEILAND et ABDALLAH en 1968, en mettant en évidence CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans les organes du pigeon (intestin, foie, cœur), sans pour cela qu'il en souffre.

SETHI et RANDHAWA (71) ont montré que le pigeon était expérimentalement résistant. Ils nourrissent à cet effet des pigeons avec une souche virulente de cryptocoque. L'organisme est retrouvé dans le tractus intestinal et dans les fientes fraîches durant une période de 3 semaines. Sur 18 pigeons, aucun mort, aucun signe clinique, aucune lésion macroscopique, ni microscopique d'infection cryptococcique n'étaient apparents. Cette conclusion semble peu valable cependant : en effet, la voie d'infection est peu sévère et le délai entre le début de l'infection et le diagnostic négatif étant bref.

Pour les Mammifères, les auteurs Américains ont montré que le chat est deux fois plus souvent parasité que le chien, peut-être à cause de ses mœurs de chasseur d'oiseaux.

— La race n'a aucune importance.

Contrairement à nos espèces animales, l'espèce humaine montre de grandes variations raciales : la race blanche est la plus souvent atteinte (4 cas sur 5).

— Le sexe : les hommes sont deux fois plus souvent atteints que les femmes.

— L'âge : les animaux d'âge moyen sont plus souvent atteints; ceci est peut-être dû à la période d'incubation assez longue.

— L'état général : ne semble pas influer sur l'apparition de la maladie, contrairement à l'espèce humaine, où les maladies et états morbides semblent faire le lit du cryptocoque qui se comporte en champignon « opportuniste ».

— C'est ainsi que RECCO (62) décrit 36 % de cryptococcose secondaire à des maladies malignes (surtout maladie de HODGKIN) à des maladies parasitaires ou mycosiques, dont la tuberculose, à des terrains particuliers (diabète, insuffisance hépatique ou rénale, grossesse).

— Des traitements prolongés avec des antibiotiques et corticoïdes : dans les conditions naturelles on ne retrou-

ve pas dans les publications vétérinaires, excepté pour l'enzootie de mammite cryptococique décrite par SIMON (73) en 1953 dans le Wisconsin résultant probablement d'injections intramammaires de pénicilline effectuées régulièrement. Dans les conditions expérimentales la maladie peut être reproduite par cet effet thérapeutique.

La réponse inflammatoire à l'inoculation cutanée de CRYPTOCOCCUS NEOFOMANS est abolie par la cortisone et à un degré moindre par la radio-thérapie. Ces traitements sont suivis d'une dissémination de la maladie.

Par contre, en 1960, LOURIA (43) n'observe pas ces effets dans la cryptococcose de la souris : il n'y aurait pas de différence significative entre le taux de mortalité et la rapidité de la mort d'un lot de souris traitées par la cortisone et ceux d'un lot de souris non traitées par la cortisone. Pour expliquer ce fait surprenant, l'auteur suppose que l'influence néfaste des corticoïdes sur la maladie expérimentale peut varier avec des races de souris.

Nous concluons que dans les espèces animales, la cryptococcose primaire est la règle contrairement à l'espèce humaine où elle est parfois une maladie d' « opportunité ».

III. — MODALITES DE L'INFESTATION

1) Sources du parasite

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est avant tout une levure tellurique.

— Le sol : de nombreux auteurs l'ont retrouvée dans le sol (in 2).

EMMONS, en 1951, sur 716 échantillons de sols de fermes isole 4 souches de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. En 1955 il montre son association fréquente avec les terres souillées par les fientes de pigeons; ainsi 63 souches sont obtenues à partir de 111 échantillons de sol.

Pendant cinq ans des échantillons de terre furent prélevés dans des aires géographiques varieés :

ETATS-UNIS	884	1,3 % de ces échantillons se révélèrent positifs.
PANAMA	100	
HAWAI	100	
NIGERIA	26	
CANADA	12	
VENEZUELA	5	

En 1964, FREY (30) en AUSTRALIE, recueille une première série de 42 échantillons de sol dans différentes régions d'AUSTRALIE et de NOUVELLE-GUINEE; une seule fois la levure poussa en culture et ne fut pas pathogène pour la souris. Par contre, dans une deuxième série de 51 échantillons de terre recueillis à SYDNEY, dans des parcs publics où vivent des pigeons, il obtient 7 cultures positives de levures pathogènes pour la souris.

— Les plantes

SAN FELICE (1894) découvre la souche de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans un jus de fruit. Ainsi les fruits peuvent apparaître comme une source très banale de contamination. Mais cela semble être l'exception. Dans la littérature nous n'avons trouvé que 2 exemples :

— KRASNIKOV (43) et ses collaborateurs, en 1971, le retrouvent dans la flore fongide des plantes des champs et dans les récoltes.

— EVENSON (29) en 1964, découvre la levure dans 9 des 20 échantillons du liquide suintant d'un arbre de prosopis (PROSOPIS JULIFLORA), ainsi que dans l'écorce.

— Les animaux

Ils sont sensibles à l'infection cryptococcique, mais ils constituent surtout des milieux de conservation ou de multiplication de la levure. Ce sont les oiseaux, et tout particulièrement les pigeons, qui ont donné lieu au plus grand nombre de travaux.

Comme nous l'avons cité précédemment, c'est EMMONS, en 1955, qui l'isole de vieux nids et de fientes de pigeons dans le COMTE de LOUNDEN en VIRGINIE, à partir de 19 endroits : 63 pélèvements sur 111 sont positifs, soit une incidence de 56,7 %.

KAO et SCHWARTZ (39), en 1957, retrouvèrent 47 souchent à partir de 107 échantillons de fientes de pigeons de CINCINATTI, et s'assurèrent de leurs caractères biologiques et de leur pathogénicité : incidence de 43,3 %.

De septembre 1956 à janvier 1957, dans cinq faubourgs de NEW-YORK, LITTMAN (45) préleva 201 échantillons de fientes provenant de jeunes pigeons d'oisellerie, de pigeons de compagnie et des prélèvements sur des bâtiments publics sont effectués : 72 fois la levure est mise en évidence, soit 36 % d'échantillons positifs.

En 1968, LITTMAN encore, capture 94 pigeons de NEW-YORK : 7 d'entre eux véhiculaient la levure sur leur bec et dans leur tube digestif.

BOHM (8), en 1967, isole 41 fois l'organisme de 105 échantillons de fientes de pigeons prélevés dans les rues et squares de HANOVRE : incidence de 39 %.

SCHONBORN (68) rapporte en 1969 l'examen mycologique de 357 échantillons de fientes d'oiseaux, constitués de 117 oiseaux sauvages, 147 de pigeons, 103 d'oiseaux de zoo : aucun ne révéla CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Des chercheurs colombiens à MEDELLIN (53) avaient isolé 11 fois l'organisme de 80 échantillons provenant de nids, de fumier, de sols riches en déjections de pigeons : soit un incidence de 13,7 %.

Au DANEMARK, en 1969, BACH (3) retrouva la levure dans cinq des douze localités explorées : 13 sur 30 échantillons furent positifs en culture; 11 souches sur 13 furent pathogènes pour la souris. L'auteur conclut de ses travaux que la méthode des cultures est plus favorable pour retrouver CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS que l'inoculation à l'animal.

RHANDHAWA, CLAYTON, RIDDEL n'isolent que 3 fois CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS sur 49 échantillons ramassés à LONDRES en 1965 (61).

MANTOVANI (51) en ITALIE, recherche la levure dans les milieux urbain et rural fréquentés par les oiseaux et les chauve-souris : 4 échantillons sur 257 révèlent la levure avec une fréquence de 1,5 % en milieu rural, et 3 échantillons sur 171, soit 4 % en milieu urbain.

En 1968, en THAILANDE, TAYLOR (80) isole la levure dans 8 échantillons sur les 43 spécimens de fientes recueillis dans des habitats de pigeons et de coucous, ceci dans plusieurs endroits différents du pays très éloignés les uns des autres.

A TUNIS, en décembre 1971, KCHOUK et ses collaborateurs (41) n'isolent qu'une seule souche de CRYPTOCOCCUS NEOFOMANS, à partir de 25 prélèvements de fientes de pigeons : incidence de 4 %.

2) **Modes d'infestation**

Deux théories tentent d'expliquer l'origine de l'infestation : la théorie endogène et la théorie exogène.

— La théorie endogène est basée sur la découverte de souches saprophytes de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans l'organisme.

— La théorie exogène tient compte du fait que CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est avant tout un germe tellurique.

Ainsi se pose la question de la porte d'entrée :

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS semble devoir pénétrer dans l'organisme selon trois voies : aérienne, cutanée et digestive.

— La porte d'entrée aérienne est notamment pulmonaire paraît être la plus logique et la plus fréquente, car CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS peut être présent à l'état saprophytique dans les voies aériennes ou inhalé avec des poussières.

Il détermine des atteintes pulmonaires fréquentes, bien que la taille de l'organisme soit facteur limitant à la pénétration dans les alvéoles.

Que la cryptococcose soit ultérieurement pulmonaire ou méningée, de nombreux auteurs ont souligné l'existence d'une vraisemblable « primo infection cryptococcique pulmonaire » qui dans la majorité des cas demeure pratiquement asymptomatique.

— La porte d'entrée cutanée n'est possible que s'il y a une solution de continuité réalisée lors de blessure ou d'inoculation de cryptocoque.

— La porte d'entrée digestive doit aussi exister, mais avec une fréquence bien moindre. NEWBERRY (55) effectua des coprocultures chez des éleveurs de pigeons : 25 d'entre eux se révélèrent porteurs sains de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

3) **Conditions favorisantes**

La fréquence de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans les fientes de pigeons suggère que les animaux de la ferme et les éleveurs qui cotoient le pigeonnier, parfois situé au-dessus de l'écurie ou de l'étable, devraient être plus souvent atteints que les sujets vivant loin des pigeons. Nous n'avons pu trouver de publication vétérinaire relatant l'incidence de la cryptococcose infestation avec la crpytococcose maladie. Par contre, en médecine humaine nous trouvons quelques rares cas pouvant accréditer le rôle du pigeon dans l'apparition de la maladie.

MUCHMORE (54) aux ETATS-UNIS, retrouve la levure dans 6 des 71 échantillons de sol et de fientes prélevés dans une région de l'OKLAHOMA, où en moins d'un an trois méningites cryptococciques mortelles sont survenues chez des fermiers.

Sur les 6 prélèvements positifs, 4 provenaient de fientes de pigeons et de moineaux, les deux autres de la terre.

PROCKNOW (60), en 1965, décrit chez un jeune homme une hépatite cryptococcique. Il a été prouvé que le malade, dans son immeuble, avait été largement en contact avec des excrétats de pigeons où l'on confirma la présence de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

SIMMERS (76), en ANGLETERRE, cite 6 cas de crytococcose humaine chez des patients logés dans de vieux hôpitaux fréquentés par des oiseaux (pigeons et étournaux), chez qui on confirma la présence de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Les malades avaient l'habitude de les nourrir et de s'en occuper.

De la même façon, ABERFELD (1), BRUKS (10) et PERRUCHIO (57) ont retrouvé dans l'entourage de leurs malades une source d'infection précise : des pigeons contaminés étant encore à l'origine de cryptococcose humaine.

Facteurs intervenant dans sa survie et sa multiplication :

— Dans le sol : Bien que fréquemment trouvé dans les sols, il ne semble pas que ce soit l'habitat primaire de cet organisme.

WEILAND et EMILIE (91) effectuant des investigations à long terme sur sa viabilité dans du sable et dans une terre de jardin, montrent une diminution rapide des possibilités de multiplication. Sur 12 mois les échantillons quantitatifs montrèrent une diminution permanente du nombre de cellules capables de multiplication. Après 18 mois aucune cellule n'était viable. Cette expérimentation pratiquée avec 2 variétés de cellules, l'une fortement capsulée, l'autre faiblement, ne permit pas de montrer une différence de résistance aux facteurs telluriques.

ISHAQ et CHOUNDRY (37), en 1968, soumettent une population de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS à différentes épreuves physiques. Ensemençant à cet effet de la terre stérilisée avec la levure, ils constatent que les températures inférieures à 24 °C, et l'humidité prolongent la survie. La lumière solaire, une humidité notable, de haute

température (à partir de 50 - 55 °C) lui sont léthales. Ils observèrent aussi que, de même que l'épaisseur de la capsule diminuait, l'incubation dans le sol était augmentée, de sorte que CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS existe dans la nature dans un état presque non capsulé. Ceci d'ailleurs corrobore avec les hypothèses de BULMER, SANS et GUNN.

— Les travaux d'EVANS de l'Université de GLASGOW, concordant avec ceux d'ISHAQ et CHOUNDRY, précisent l'influence des facteurs étudiés par ceux-ci quand CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS se trouve dans les fientes de pigeons. Lorsqu'elles sont exposées aux conditions atmosphériques le nombre de levures diminue progressivement. Par contre, si elles sont protégées de l'humidité, elles demeurent nombreuses. Le pourcentage optimal d'humidité, dans des fientes infestées, est d'à peu près 20 % à 5 °C. Si le pourcentage d'humidité est supérieur à 20 %, le pH s'élève et le cryptocoque disparaît en 3 à 8 mois. Par contre, si le pourcentage est inférieur à 20 %, les échantillons demeurent infestés au moins 17 mois.

L'effet de l'humidité résulte en partie de l'augmentation de pH due à l'activité d'autres microorganismes.

Dans les fientes exposées aux conditions atmosphériques, la disparition du cryptocoque est 3 fois plus rapide en été qu'en hiver.

La claustration des pigeons semble être un facteur favorisant le développement et la multiplication de l'organisme, comme EMMONS l'a montré dans les prélèvements effectués à NEW-YORK. Les pigeons enfermés dans ces cages d'intérieur sont plus fréquemment infestés (54 %, 65 %, 100 %) que les pigeons enfermés dans des cages à l'extérieur (32 %) qui sont eux-mêmes plus fréquemment infestés que les pigeons libres. Ceci est confirmé par EVANS.

En outre un facteur semble important dans la survie de l'organisme : l'acidité du milieu ambiant. Si celui-ci est neutrneutre ou légèrement acide, l'organisme se maintiendra; par contre l'ambiance alcaline lui est très défavorable.

L'isolement fréquent de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS des fientes des nids, de sols souillés par les déjections des oiseaux, montre que ces milieux peuvent se comporter comme des réservoirs. Ceci prouve que dans ces habitats l'organisme survit ou s'y multiplie.

La même année, WALTER (86) a démontré les facteurs physiques qui déterminent sa survie et sa croissance dans les fientes de pigeons et de poules.

Dans les fientes de poules sa croissance est ralentie à cause d'une inhibition et non pas à cause d'un manque de nutriments. Cette inhibition semble être le résultat de leur haute alcalinité et de la présence d'une substance de faible poids moléculaire thermostable. Par contre, dans les conditions naturelles, l'alcalinisation des fientes de pigeons, par décomposition bactérienne, n'apparaît pas. Leur déshydratation rapide dans la nature et peut être aussi dans les cages, supprime la multiplication bactérienne qui est nécessaire à la production d'un pH aloalin.

CRYPTOCOCCUS possède aussi la propriété de croitre à des températures relativement élevées. Or elles sont voisines des températures rectables des pigeons variant de 41 °C 5 à 43 °C 3 .

IV. — **POUVOIR TOXIQUE**

De nombreux auteurs ont émis l'hypothèse que CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS élaborait une ou des endotoxines, surtout hystolytique, qui plus que la multiplication du parasite lui-même, serait responsable de la mort : ceci expliquerait les délais relativement longs au terme desquels la mort survient même après inoculation par des voies sévères. Cependant, FREEMAN et WEIDMAN (in 34) cultivant la levure sur cerveau stérile, ont montré en 1923 que cet aspect histologique était dû aux formations capsulaires et qu'il n'y avait pas lieu de retenir l'hypothèse d'une toxine.

Depuis, aucun auteur n'a démontré la présence d'une ou de toxines, bien que l'hypothèse soit encore émise par certains.

L'élaboration de polyosides capsulaires a donné lieu à de nombreuses études.

DROUHET et SEGRETAIN (22) ont montré en 1952 une propriété intéressante de ce polyoside. In vitro il inhibe la migration leucocytaire qui se produit normalement en présence de grains d'amidon. Les cellules intactes de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, si elles sont soigneusement lavées, ne possèdent pas cette propriété qui est le fait du polysaccharide libre. Ils ont aussi montré la possibilité de phagocytose de cellules du type S par les leucocytes et ils pensent que cette phagocytose libère le polyoside et vient inhiber l'afflux de nouveaux leucocytes.

Les carcatères histologiques de la maladie naturelle et expérimentale, en particulier de l'absence de réaction cellulaire importante, peuvent être expliquées par la libération in vivo de ce polyoside.

Ainsi pourrait s'expliquer la plus grande virulence des souches fortement capsulées, bien que ce caractère soit encore très contesté, comme nous le verrons ultérieurement.

DROUHET et SEGRETAIN ont montré de même que l'hyaluronidase est capable de diminuer la capsule des levures qui alors s'agglutinent.

Des travaux ultérieurs ont précisé la composition du polyoside capsulaire qui contient probablement galactose, fructose, D - xylose et acide glycuronique.

V. — **POUVOIR ANTIGENE ET IMMUNISANT**

Les propriétés antigéniques sont dues à deux types d'antigènes : les premiers sont capsulaires, ce sont des polyosides qui jouent le rôle d'haptène; les seconds sont

surtout des antigènes pariétaux, antigènes complets présents dans la paroi cellulaire. Il en résulte que ces antigènes ont une aptitude à imprégner l'organisme et à manifester leur activité antigénique inversement proportionnelle à l'épaisseur de la capsule qui gêne leur libération : la décapsulation enzymatique du parasite enlève l'angénicité et les cryptocoques ainsi traités se montrent davantage immunigènes.

WALTER a effectué le sérotypage de 472 prélèvements de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS obtenus à partir d'échantillons d'origine saprophytique et clinique. Il montra cinq groupes sérologiques. Ceux-ci comprenaient les trois types A, B, C, connus plus un quatrième sérotype qui ne réagit pas avec les antisérums spécifiques pour n'importe lequel des types A, B, C. Un cinquième fut désigné variante du type B.

Le sérotype A rendait compte à 100 % (189 cultures) des prélèvements d'origine aviaire — 95,4 % (83 cultures) des prélèvements saprophytiques non aviaires.

89,1 % (193 cultures) à partir d'infections humaines.

Il semble que certains Ag paraissent communs à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS et à des espèces non pathogènes comme CRYPTOCOCCUS DIFFLUENS.

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS apparaît peu immunigène.

PATHOGENIE

I. — VIRULENCE

De nombreux auteurs se sont intéressés à l'influence de la capsule sur la virulence de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

DROUHET et SEGRETAIN (23) constatent que pour la souris et le cobaye les levures capsulées sont beaucoup plus virulentes que celles qui le sont peu.

Par contre, LITTMAN et TSUBURA (47) montrent en 1958 que des cellules de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS faiblement capsulées sont aussi virulentes pour la souris blanche que les cellules fortement capsulées de la même lignée. Ils concluent que le degré d'encapsulement n'est pas un facteur dans la virulence de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS pour la souris blanche.

En 1967 et 1968, BULMER, SANS et GUNN (11) (12), étudient les mutants non capsulés et la phagocytose de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS par les leucocytes humains et l'inhibition de cette phagocytose.

Après 7 mois de repiquage des cultures, 6 des 7 souches ont acquis une capsule et se sont avérées avoir des degrés de virulence variables, ce taux de phagocytose est multiplié par trois s'il s'agit de mutants non capsulés. Quand ils reprennent leur état antérieur, le pourcentage de phagocytose décroit de nouveau.

Le degré d'encapsulement intervient donc dans la virulence, mais d'autres facteurs doivent aussi influer.

II. — **POUVOIR PATHOGENE**

— Expérimental

Celui-ci a été étudié ces dernières années; de nombreux travaux ont été entrepris, en particulier pour étudier l'action de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS sur la souris, le rat, le cobaye, le singe, les embryons de poulet, les oiseaux.

La souris blanche est l'animal de laboratoire le plus utile pour les études de pathogénicité, à cause de sa grande sensibilité au cryptocoque; les autres animaux sont peu sensibles.

— Chez les Mammifères :

DROUET et SAGRETAIN (25), en 1947 et 1950, ont bien étudié l'influence des différentes voies d'inoculation chez la souris :

Voie intra-péritoneale qui n'entraîne la mort qu'après plusieur semaines (2 à 7 semaines).

Voie intra-veineuse : mortelle en 2 à 4 semaines.

Voie intra-musculaire : délais mortels beaucoup plus longs.

Voie intra-cérébrale : provoque la mort en moins de 3 semaines. Cette voie est donc la plus sévère et la DL 50 est plus faible lorsqu'on inocule les animaux dans le cerveau que lorsqu'on utilise les autres voies.

Le cobaye ne meurt qu'en 45 jours.

Le lapin ne répond pas toujours à l'inoculation intra-veineuse.

Ils ont montré en étudiant les lésions que les voies de dissémination sont la voie veineuse, toutes les hémocultures étant positives; la voie lymphatique est probable, certains ganglions étant envahis.

En 1957, LEVINE et ZIMMERMAN (45) reproduisent chez la souris la maladie expérimentale et concluent leurs travaux de la manière suivante :

« La prédilection de l'affectation pour le système nerveux central est en relation directe avec la minime réponse inflammatoire du tissu cérébral. Par ailleurs cette réponse inflammatoire à l'inoculation cutanée de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est abolie par la cortisone et à moindre degré par les rayons X. Ces traitements sont suivis par une dissémination de l'affection ».

Ces mêmes auteurs (45), en 1968, étudient chez la souris les modalités de la réponse inflammatoire du tissu cérébral à l'innoculation de levures vivantes ou tuées ou à l'implantation du polysaccharide capsulaire purifié.

Cette étude, grâce à la microscopie électronique, permet de comprendre la pathologie neuro-méningée de la CRYPTOCOCCUS.

BODENHOFF (7), en 1969, décrit la cryptococcose expérimentale de la souris qui présente des analogies avec la même forme clinique de la maladie.

En 1971, SALFELDER (63) rapporte les travaux suivants :

BASU MALLIK qui a obtenu des lésions cryptococciques cérébrales et pulmonaires chez la souris après inoculation intra-nasale.

L'étude de la crytococcose expérimentale permet ainsi de comprendre le déterminisme de la cryptococcose maladie, mais aussi la porte d'entrée et les voies de dissémination de la maladie, les facteurs influant sur l'infection, enfin la thérapeutique.

— Chez les Oiseaux :

SETHI (70), en 1966, parvient à provoquer la cryptococcose chez un pigeon en inoculant une suspension de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans la chambre antérieure de l'œil. Au bout de 5 semaines, il montra des lésions cryptococciques dans l'œil inoculé qui contenait des masses de cryptocoques encapsulés et mit en évidence des lésions de dissémination sur un seul des 6 pigeons d'expérimentation.

— Spontané

Elle a été décrite chez les animaux sauvages : singes d'AFRIQUE et d'AMERIQUE du SUD et chez les koalas d'AUSTRALIE où elle sévit à l'état endémique. Elle est décrite chez le guépard, le vison, la civette.

Tous les Mammifères domestiques semblent sensibles et cette pathogénicité, comme l'a montré BARRON (5), peut se traduire par des manifestations respiratoires ou cutanées de primo-infection jusqu'à des formes nerveuses et généralisées signant l'extension de la maladie.

MANIFESTATIONS CLINIQUES

Lors d'infection naturelle, la cryptococcose sévit d'une manière subaiguë ou chronique, évoluant par poussées successives s'étalant sur des semaines ou des mois, que ce soit dans les formes nerveuses, pulmonaires et cutanées ou dans les formes associées.

I. — SIGNES GENERAUX

Ils ne sont pas évocateurs. Ils signent seulement l'évolution d'une maladie générale, même dans les formes localisées apparemment à un seul organe.

L'hyperthermie est inconstante. Un syndrome fébrile n'y est pas toujours associé.

— En début de la maladie, l'animal montre de l'inappétence, parfois très discrète, passant à un état anorexique en fin d'évolution.

— Les habitudes sont souvent modifiées : asthénique au début de la maladie, il devient postré au fur et à mesure de l'évolution.

— Les signes hématologiques sont peu intéressants : la leucocytose est modérée ou inexistante, associée parfois à une éosinophilie légère. Observations de THERY (81) et HOLZWORTH (35) (36).

II. — SIGNES LOCAUX

Il peut y avoir une grande variété d'organes envahis par CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, soit seul, soit associé à d'autres.

RECCO (62) rapporte, en 1972, la fréquence des organes atteints en médecine humaine sur 506 cas.

Organe atteint	Formes univiscérales 321 cas		Formes multivis-cérales (2)	Formes dissé-minées (3)	Totalisation des localisations	
		Pourcen-tage (1)				Pourcen-tage
Système nerveux central	188	37,0 %	96	47	331	65,0 %
Bronches Poumons	105	21,0 %	85	38	228	46,0 %
Reins	2	0,5 %	19	39	60	12,0 %
Adénopathie Rate	3	0,6 %	14	33	50	10,0 %
Peau Muqueuses	6	1,2 %	29	12	47	9,0 %
Os	15	3,0 %	24	7	46	9,0 %
Surénales			3	22	25	5,0 %
Foie			3	17	20	4,0 %
Coeur Vaisseaux	1	0,2 %	4	5	10	2,0 %
Moelle osseuse				5	5	1,0 %
Pancréas				2	2	0,4 %
Prostate	1	0,2 %	1		2	0,4 %

(1) Pourcentage des atteintes isolées par rapport aux 506 cas.

(2) Formes multiviscérales 2 à 3 organes attteints.

(3) Formes disséminées : dissémination confirmée à l'autopsie, plus de 3 organes atteints.

1) **La cryptococcose du système nerveux central**

L'évolution est progressive. Elle se traduit par des troubles du comportement, comme le rapportent SEIBOLD et Mc GRATH. Ce sont tout d'abord des troubles de la conscience matérialisés par de l'abattement, puis un état de somnolence, et même de la torpeur, et tout en fin d'évolution du coma. Les troubles de la motilité se traduisent par des parésies (HEIMBOLDT et JUNGHEN) pouvant évoluer vers des hémiplégies, paraplégies, se terminant par des paralysies; des dyskinésies se traduisant par des vertiges, des ataxies cinétiques (mouvement de tourner en rond, démarche ébrieuse, incoordination motrice) ou statiques (impossibilité de se tenir debout) : observations de SEIBOLD et Mc GRATH.

Des troubles sensoriels parfois uniques au début de la maladie, s'associent souvent aux autres symptômes nerveux : la vision semble souvent atteinte : cela se traduit par une cécité primaire ou secondaire avec souvent mydriase. L'audition est souvent modifiée.

En fait, les symptômes peuvent être très variés, dépendant de la localisation dans le système nerveux central. Ils commencent fréquemment par une phase méningée, puis encéphalitique.

2) **La cryptococcose respiratoire**

— Symptômes fonctionnels : ils sont non spécifiques et non évocateurs.

Au début, l'animal présente une dyspnée mixte à laquelle s'associent du jetage et de la chassis séreux plus ou moins discrets. Le jetage devient très rarement muqueux ou purulent. Parfois une épistaxis unie ou bilatérale peut compliquer le jetage séreux. La toux, qui n'est pas de règle, présente des caractères sémiologiques variables.

— Symptômes physiques :

Localisation nasale : la rhinoscopie montre de petites masses unies ou bilatérales plus ou moins développées, en

position sous muqueuse, d'aspect sanguignolant ou ulcéré BARRON (5) et SCHELLNER (in 64).

Localisation sinusale : l'examen est possible par trépanation. Il permet de mettre en évidence des proliférations saigneuses ou ulcérées plus ou moins envahissantes et pénétrant dans les tissus adjacents, (Observations de SEIBOLD (72) (ROBERTS - JORDAN).

Localisation laryngée : le carrefour (orolaryngé est fréquemment congestionné avec une réaction des amygdales (Observation de HOLZWORTH, DAVID, COFFIN (36).

Localisation broncho-pulmonaire : la percussion ne montre pas de zones de matite, le murmure vésiculaire est modifié; des rales occasionnels sont perçus, sauf s'il y a dissémination miliaire avancée.

L'examen radiologique quand il a été entrepris chez l'animal s'est révélé négatif (HOLZWORTH, DAVID, COFFIN) bien que théoriquement des opacités circonscrites traduisant les nodules doivent être visibles.

3) **La mammite cryptococcique** (82) (69) :

Elle n'a été décrite que chez les vaches laitières en lactation et constitue aux ETATS-UNIS, selon SWETT (in 82) 1,76 % des mammites bovines. Son évolution est chronique.

— Symptômes fonctionnels :

Selon l'animal, l'état général est plus ou moins affecté. Les auteurs américains décrivent une douleur très importante se traduisant par une répugnance à marcher, à manger et à boire et un refus de se coucher. Les auteurs français ne constatent, quant à eux, aucun des symptômes précédemment indiqués. L'élévation de température est notable ou modérée. Les grandes fonctions ne sont pas perturbées dans la majorité des cas : les auteurs américains signalent cependant dans certains cas de l'anorexie.

— Symptômes physiques :

Un seul quartier est souvent atteint, bien qu'il puisse y avoir passage aux voisins.

Au début un œdème plus ou moins important s'étend jusqu'aux membres inférieurs, accompagné parfois d'une chute de la peau non purigineuse. Il n'y a pas encore de signes de mammite clinique. Le ganglion rétromammaire est hypertrophié.

Ensuite le quartier atteint apparaît volumineux, ferme, fibreux. Il est indolore. En l'absence de traitement précoce il conserve cette consistance ferme et fibreuse.

La sécrétion lactée est diminuée en volume, voire arrêtée. Le lait est mucoïde, visqueux, glaireux : c'est le caractère cardinal de la mammite cryptococcique. Par décantation cette consistance est accentuée. La couleur varie du blanc jaunâtre au grisâtre. La sécrétion contient de petits bourbillons.

4) **Autres formes viscérales :**

Elles semblent liées aux formes de dissémination qui semblent être les plus graves.

— Localisations spléno-ganglionnaires : elles s'intègrent dans un tableau de cryptococcose disséminée. SEIBOLD rapporte une atteinte splénique constatée à l'autopsie sur un chien présentant une cryptococcose méningée.

TAKOS et ELTON (79), en 1953, montrent un envahissement splénique et lymphatique chez des ouistitis de PANAMA atteints de cryptococcose pulmonaire avancée.

WEIDMAN et RATCLIFFE (in 90) découvrent à l'autopsie une infiltration massive de la rate et des différents ganglions ainsi que d'autres organes de 2 léopards du zoo de PHILADELPHIE.

Les auteurs américains, effectuant les autopsies de vaches atteintes de mammite cryptococcique, montrent un

envahissement des ganglions voisins avec parfois des nodules spléniques.

THERY (81) met en évidence une crytococcose ganglionnaire pure chez un chat évoluant par poussées successives depuis des mois.

— Localisations rénales :

Elles existent dans les formes disséminées, se traduisant par une néphrite avec une uroculture parfois positive.

5) **Localisations cutaneo-muqueuses**

Ce sont des nodules parfois confluents et souvent ulcérés. Des lésions acnéiformes ne sont pas décrites comme dans l'espèce humaine.

EVOLUTION

La cryptococcose maladie n'a aucune tendance à régresser naturellement, évoluant en l'absence de traitement vers une issue fatale par poussées successives entrecoupées d'apparentes phases d'amélioration.

LESIONS

I. — ASPECT MACROSCOPIQUE

Les lésions sont de taille variable de forme sphérique, parfois visibles à l'œil nu, de consistance souvent gélatineuse, assez peu spécifiques.

— Lésions respiratoires supérieures : sont formées de proliférations sous muqueuses, d'aspect myxomateux, de taille variable, ulcérées ou non, la coupe pouvant présenter une consistance graisseuse.

— Lésions pulmonaires et pleurales : apparaissent comme des nodules péri et intra parenchymateux, uniques parfois, arrondis, bien délimités, pseudokystiques à contenu plus ou moins visqueux, signant ainsi le foyer primaire d'infection.

— Lésions méningées et meningo-encéphalitiques : la plus constante, témoignant du neurotropisme de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Ce sont des nodules de taille variable avec une faible réaction inflammatoire des trois méninges. La pie mère est souvent épaissie. Les vaisseaux méningés sont congestionnés ainsi que les espaces sous arachnoïdiens. De plus, parfois on observe de l'hydrocéphalie, mais rarement des hémorragies. Il peut y avoir dilatation de l'espace sous arachnoïdien et constitu tion d'un exsudat blanchâtre et crémeux.

— Lésions cutanéo-muqueuses : ce sont des lésions suppuratives non spécifiques extensives.

— Lésions mammaires : Le quartier est ferme, charnu. A la section il se montre partiellement hémorragique, divisé en de larges lobules mal délimités, remplis d'un liquide de consistance mucoïde, gluante. Les ganglions rétroammaires sont hypertrophiés, reposant dans un tissu œdématié. Ils sont hémorragiques. A la section le même liquide gluant sourd.

L'autopsie de ces vaches montre une atteinte des ganglions ischiatiques et de la rate. Ce qui prouve, comme l'ont démontré les travaux d'INNES, SEIBOLD et ARENTZEN (in 82) que l'infection débute par le sinus galactophore.

II. — **VOIES DE DISSEMINATION**

La voie sanguine permet d'expliquer les lésions nerveuses, profondes, isolées en plein tissu nerveux, semblables à des métastases. Il en est de même pour les lésions spléniques et hépatiques. DROUHET et SEGRETAIN ont constaté que chez la souris, la rate, d'une manière cons-

tante, est hypertrohpiée, congestionnée et riche en nodules cryptococciques, si l'évolution est suffisamment longue.

Ces lésions, ayant au début une consistance visqueuse, évoluent soit vers la caséification, puis la calcification, soit vers l'abcédation, la nécrose et l'ulcération.

— La voie lymphatique, quoique sûrement moins décisive que la voie sanguine, possède une certaine importance surtout dans la forme mammaire.

— La propagation par contiguité n'est pas exclue dans les conditions naturelles. DROUHET et SEGRETAIN (in 62) ont démontré qu'elle existait expérimentalement.

III. — **ASPECT HISTO-PATHOLOGIQUE**

C'est très souvent par des examens histologiques qu'on est amené à diagnostiquer la cryptococcose.

La coloration s'avère nécessaire pour les biopsies et échantillons opératoires ou nécropsiques.

La mise en évidence de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est facilités grâce à certaines colorations.

— L'hématoxyline éosine donne une coloration brune de la cellule et rouge de la capsule;

— Le PAS (l'acide périodique fuschine de SCHIFF), par la technique d'HOTCHKISS MAC MANUS, donne une coloration rose violacée de la cellule et rose pâle de la capsule;

— Le mucicarmin de MAYER se fixe sur les polyosides capsulaires et les colore en rouge rosé;

— Le bleu ALCYAN colore en bleu les substances muqueuses;

— La non coloration par le lugol permet de différencier le cryptocoque des corps amyloïdes de la substance nerveuse.

Par ces méthodes CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est assez facile à reconnaître, surtout quand il se trouve inclus dans des pseudo-kystes ou un pseudo-tumeur dans un organe ou le cryptocoque est enclavé dans un réseau de réticuline apparaissait comme une levure arrondie, bourgeonnante, entourée d'une capsule épaisse, éosinophile, faiblement PAS positive et fortement mucicarminophile. Par contre le diagnostic est plus délicat quand sa taille est réduite (2,5 - 5 microns). La capsule réduite alors de 0,5 - 1 micron, alors que le diamètre total habituel est de 6 - 20 microns. La réaction est alors très accusée sous forme d'un granulome histiocytaire et plasmodial, creusé de zones de nécrose et découpé en lobules par de la fibrose. Ainsi certains auteurs (17) ont proposé des colorations différentielles en associant le PAS l'imprégnation argentique et mucicarmin de MAYER. Ceci permet de mettre en évidence la paroi propre de la levure qui devient noire ou gris foncé, de colorer la capsule muqueuse en rose vif par le mucicarmin.

IV. — MODALITES DES REACTIONS TISSULAIRES

Quel que soit le tissu envahi, on peut retrouver schématiquement deux types de réactions tissulaires :

— Les lésions gélatineuses ou mucoïdes correspondant à une très faible réaction tissulaire avec, par contre, une pullulation de cellules fongiques.

Elles ressemblent à des tumeurs myxomateuses ou à des inflammations pseudo-membraneuses dans les muqueuses, dans les méninges, elles peuvent être confondues avec des lésions exudatives. Ces foyers de taille variable sont très bien délimités dans le tissu environnant, bien qu'aucune capsule ne les entoure.

Dans les tissus solides, la raréfaction du parenchyme ne semble pas due à l'action hystolytique de la levure, mais à l'accumulation de cellules fongiques des substances capsulaires extra cellulaires, par compression, elle entraîneraient la lente atrophie du parenchyme.

— Lésions granulomateuses réalisent des nodules ou des pseudo tumeurs. La réaction tissulaire est ici importante et les cellules fongiques sont moins nombreuses et de taille souvent plus réduite.

Les « cryptoccomes » correspondent à des masses solitaires de nature gélatineuse ou granulomateuse qui peuvent subir l'exérèse chirurgicale.

— La forme septique ou « fongémie » se traduit par l'apparition de nombreuses cellules fongiques dans les vaisseaux sanguins, les capillaires et tous les viscères.

Il n'y a ni réaction des parois vasculaires, ni foyers cryptococciques péri-vasculaires.

L'évolution de ces lésions peut se faire dans de rares cas :

— soit vers la caséification, puis la calcification;

— soit vers l'abcédation, la nécrose, l'ulcération.

Les cryptocoques sont visibles :

— soit dans les macrophages et les histiocytes;

— soit dans les caseum ou le pus.

La capsule semble plus mince chez les cryptocoques intra-cellulaires que chez les cryptocoques libres (extra-cellulaires).

Plusieurs de ces réactions tissulaires peuvent se rencontrer dans les différents organes d'un même malade.

DIAGNOSTIC

I. — EPIDEMIOLOGIE

Comme nous l'avons montré précédemment, il existe dans certains cas un rapport entre la cryptococcose humaine et l'infestation cryptococcique des pigeons, de sorte que

les humains et les animaux exposés présentent une plus grande probabilité d'infestation par CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

II. — CLINIQUE

Il faudra y songer chaque fois qu'un animal présente une affection respiratoire chronique associée ou non à des symptômes de méningite, puis de méningo-encéphalite débilitante, évoluant pas accès et rebelle à tous les traitements antimicrobiens. En fait, le diagnostic certain repose exclusivement sur la mise en évidence de la levure sur une coupe histologique ou après culture.

III. — EXPERIMENTAL

1) **Prélèvements :**

Toute solution de continuité mettant en rapport l'organe atteint avec le milieu extérieur, avec production d'un liquide contenant de la levure : pus, expectoration, urine, fécès, lait de mammite, l'examen sera fait à l'état frais et en culture.

Les croûtes cutanées seront examinées dans une goutte de potasse de 20 à 30 %.

Les liquides pathologiques centrifugés à 2 500 t/mn pendant 15 mn : le culot examiné.

Toute biopsie et pièces opératoires ou nécropsique; granulome nasal ou pulmonaire après lobectonie, liquide céphalorachidien, pseudo tumeur cérébrale, ponction de pulpe ganglionnaire, sont divisés en deux parties, l'une pour fixation en vue de l'examen histologique, l'autre pour culture après broyage.

2) **Examen direct :**

La présence de levures capsulées de 5-10 microns peut attirer l'attention, surtout en présence anormale de lymphocytes. L'examen à l'encre de Chine diluée (1 goutte d'encre

de Chine + 2 gouttes de liquide pathologique) s'avère indispensable, car elle révèle la capsule, différenciant la levure des lymphocytes et des hématies.

3) **Cultures :**

Les cultures doivent impérativement confirmer l'examen direct. Il faudra les répéter surtout si l'examen direct est négatif ou si les levures y sont peu nombreuses. Les cultures en milieu de Sabouraud seront effectuées à 37 °C.

4) **Biochimie :**

La recherche de l'uréase par ensemencement du milieu urée-indole s'avère être la réaction biochimique la plus rapide pour différencier CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS des souches saprophytes de cryptocoques.

5) **Inoculation à la souris :**

L'inoculation à la souris par voie intra-cérébrale, intrapéritonéale ou intra-veineuse, donnera la preuve du pouvoir pathogène. Mais les résultats sont plus ou moins rapides, en fonction du pouvoir pathogène de la souche et de la voie d'inoculation et ils ne sont pas toujours bons.

IV. — IMMUNOLOGIQUE

1) **Sérologie**

Jusqu'en 1968 les différents auteurs estimaient que les données sérologiques étaient peu significatives et inconstantes. Mais récemment certains auteurs prouvèrent que ces méthodes sont beaucoup plus fidèles qu'on pouvait le penser.

En 1968, KAUFMAN et BLUMER (40) utilisent à grande échelle les trois tests suivants :

— Le test d'agglutination au latex pour l'antigène de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS,

— Le test indirect des anticorps fluorescents,

— Le test d'agglutination pour la recherche d'anticorps

Ils les appliquent à 141 sérums et liquides céphalo-rachidiens provenant :

— d'une part, de 42 sujets normaux et ayant une autre mycose profonde,

— d'autre part, de 66 malades porteurs de cryptococcose.

Le test d'agglutination au latex s'avéra très sensible **et** très spécifique (55 % de résultats positifs chez les malades).

Le test d'agglutination fut très spécifique.

Le test des anticorps fluorescents fut le moins spécifique des trois.

Quand les trois tests furent réalisés ensemble, les auteurs ont eu une présomption diagnostique de cryptococcose chez 61 malades sur 70, soit 92 %.

Selon les auteurs, les avis sont assez différents sur la valeur du diagnostic sérologique.

2) **Tests cutanés**

SALVIN et SMITH (64), en 1961, préparent un antigène soluble à partir d'une culture de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

L'injection intra-dermique de 1 ml de la solution antigénique à des dilutions variables : 0,01-0,1-1-10 microns g/l provoquent au bout de 24 heures la formation d'une papule indurée dont la taille est sensiblement proportionnelle à la dilution utilisée. Les auteurs n'ont pas obtenu avec cet antigène de réactions croisées chez des animaux atteints de candidose ou d'histoplasmose.

BENNET (6), en 1964, prépare par ultracentrifugation un extrait de levure; sur des cobayes préalablement inoculés par voie intrapéritonéale avec une souche virulente de levures; l'auteur pratique, après deux à cinq semaines de maladie animale, des intradermoréactions avec 0,1 ml de

l'extrait. Il obtient un pourcentage intéressant de réponses positives.

Par ailleurs il n'a pas obtenu de réactions croisées avec la blastomycine, l'histoplasmine, la coccidioïmycine, la candidine, la trichophytine.

PREST (59), en 1967, met au point un test cutané d'anaphylaxie retardée chez des lapins. Il obtient 9 réponses positives sur les 14 animaux testés.

V. — **DIFFERENTIEL**

Il faudra surtout différencier cryptococcose et tuberculose bien plus fréquente et à laquelle on pensera sur un animal présentant une affection chronique, évoluant sur des semaines, des mois, des années, s'aggravant à chaque poussée aiguë débilitante pour l'état général. On la soupçonnera dans les étables insalubres, mal entretenues ou sur des animaux récemment achetés.

Le diagnostic différentiel sera cependant vite établi, grâce à l'intradermo tuberculination pour les bovins et équins et l'injection de tuberculine par voie sous cutanée chez les porcins, ovins et animaux de compagnie.

En fait, le diagnostic différentiel ne peut être établi véritablement que par des examens de laboratoire.

Chez les équins on différenciera la cryptococcose de la tuberculose, la morve, la dourine, les processus néoplasiques cérébraux, le syndrome immobilité, le parasitisme important.

Chez les bovins : la tuberculose, les séquelles de «pasteurellose» et de bronchite vermineuse.

Chez le chien : la tuberculose, la strongylose, la dirofilariose, les processus néoplasiques, les séquelles de la maladie de Carré.

Chez le chat : la tuberculose, la pneumonie à herpèsvirus au stade chronique, la strogylose.

PRONOSTIC

Il est très grave, car en l'absence de traitement, l'évolution finale est fatale, d'autant plus précoce dans les formes disséminées.

Dans la forme mammaire il faut intervenir précocement avant la constitution des lésions irréversibles. Un ou plusieurs quartiers sont souvent définitivement perdus. En outre, dans les conditions de la pratique vétérinaire, le traitement spécifique, comme l'ont constaté les auteurs américains, semble inéfficace.

Le traitement, s'il est entrepris, est très long avec des rechutes possibles. Il ne pourra être tenté que sur des animaux de prix : chevaux de sang, animaux de compagnie. Chez les bovins, chevaux de trait, ovins, porcins, on recommandera l'abattage.

TRAITEMENT

Les modalités de traitement seront différentes en fonction de l'extension des localisations de la maladie. En médecine humaine, deux produits se révèlent particulièrement actifs : l'amphotéricine B et la 5 fluorocytosine. Le premier se révèle inactif dans les conditions de la pratique vétérinaire selon les auteurs américains.

Nous rappellerons cependant les grandes lignes du traitement de médecine humaine.

Le second médicament récent, n'a été expérimenté que chez la souris avec une certaine réussite d'ailleurs et en médecine humaine, seul ou associée à l'amphotéricine B.

I. — CRYPTOCOCCOSE CUTANEO-MUQUEUSE

Bien que les infections cutanées et cutanéo-muqueuses soient dans la maojrité des cas consécutives à une dissémination systémique, quelques essais de traitement local

couronnés de succès sont rapportés par RECCO en médecine humaine. Il peut être réalisé chirurgicalement par excision et drainage de la région ulcérée, suivi de radiothérapie locale. On a associé des iodures localement et per os éventuellement. Un traitement médicamenteux peut être aussi entrepris avec une solution à 5 % d'amphotéricine B.

II. — CRYPTOCOCCOSE RESPIRATOIRE

La forme pseudo-tumorale localisée, bien que souvent asymptomatique, est justiciable de l'exérèse chirurgicale. On pourra lui préférer cependant le traitement médicamenteux à l'amphotéricine B qui permet d'agir sur toutes les localisations métastatiques.

III. — MAMMITE CRYPTOCOCCIQUE

Le traitement doit être précoce, sinon un ou deux quartiers sont perdus. La sensibilité de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS à différents antibiotiques sulfamides et antiseptiques a été testée par différents auteurs.

POUNDEN, AMBERSEN et JAEGER (in 82) ont étudié l'influence des antibiotiques les plus courants et d'autres médicaments sur les cryptocoques provenant de mammites bovines. Ils se révèlent inactifs.

Seuls le méthiolate en solution aqueuse aux concentrations de 0,3 g et $1/10^5$ - $1/10^3$ g par ml et le sulfaméthazine sodique se révèlent actifs.

BENITO TRUJILLO (82) cite l'acide undécylénique, les chlorophenols et les chloronaphtols, les éthers de l'acide oxybenzoïque, les diamidines aromatiques (ex propamidine), les composés à base de thiosemicarbazone et surtout l'éthyl mercurithio - salicylate de sodium.

SEGRETAIN et LABIE et leurs collaborateurs soulignent l'action de l'actidione et de la nystatine.

L'amphotéricine se révèle très active.

Dans la pratique on injectera par le canal du trayon si l'atteinte mammaire n'est pas avancée, une solution de 5 % d'amphotéricine B ou d'actidione à 1 %. Un traitement général à la sulfaméthazine sodique sera entrepris pour éviter les complications de lymphangite cryptococcique. L'association d'iode avec différents traitements peut se révéler favorable.

IV. — CRYPTOCOCCOSE DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL

Dans les formes pseudo-tumorales uniloculaires le traitement chirurgical peut être effectué; par contre, le traitement médicamenteux s'avère indispensable dans les formes multiloculaires. L'actidione et l'amphotéricine B sont toutes deux actives. La première amène des rémissions mais ne donne pas une guérison définitive, la seconde se révèle plus active à long terme.

1) **L'amphotéricine B** (24) :

Elle a été découverte en 1955 par GOLD et VANDEPUTTE et ses collaborateurs de STREPTOMYCES NODOSUS. C'est une substance de la famille des polyènes antifongiques à laquelle appartiennent la nystatine et la candicidine.

La formule brute est C 46 H 75 NO 20.

Le produit se présente sous forme de poudre jaune insoluble dans l'eau et dans l'alcool, mais soluble dans le méthyformamide et le diméthysulfoxide. Combiné à des sels biliaires comme le désoxychlorate de sodium, il est soluble dans le sérum glucosé à 4 %. Sous forme de poudre sèche, l'amphotéricine B est stable à 4 °C, mais en solution son activité diminue au bout de 24 heures; on ne peut donc conserver plus d'un jour les solutions d'amphotéricine B.

In vitro une souche de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est inhibée pendant 48 heures par 92 microns g d'amphotéricine B par ml de milieu.

Les voies d'administration :

— L'administration orale du produit chez l'animal, même à des doses considérables, n'est suivie d'aucun signe toxique.

Chez l'homme, des doses de 2 - 16 g/jours pendant pulsieurs mois n'ont donné non plus aucun signe de toxicité.

Les taux sanguins après cette administration sont très variables suivant les auteurs, mais aucun d'entre eux n'a, dans ce cas, décelé l'amphotéricine B dans le liquide céphalo-rachidien. L'absorption intestinale du produit, si elle existe, est minime.

— La voie intraveineuse a permis l'utilisation avec succès de cet antibiotique combiné au désoxychlorate de sodium.

— Chez l'animal des doses toxiques sont situées entre 3,5 et 5 mg/kg la mort survenant 48 heures après l'administration.

— Chez l'homme, pour éviter les accidents toxiques, on a préconisé l'administration de doses progressives débutant par 0,2 mg/kg de perfusion lente pendant 6 à 8 heures dans 500 ml de glucose à 5 %. Cette dose est augmentée progressivement à 0,4 mg - 0,6 mg 0,8 mg et mg par kg, dose optimale répétée tous les deux jours. Il ne faut observer plus de 24 heures une telle solution car elle est instable.

Comme l'amphotéricine B traverse mal la barrière méningée, elle sera injectée par voie rachidienne, entre les perfusions : 1 mg de produit suffit pour maintenir un taux de concentration thérapeutique pendant 3 jours.

Une prémédication d'antihistaminique et d'anti-inflammatoire : phénergan, salicylés et corticoïdes, diminue l'intensité des réactions secondaires caractérisées essentiellement par de la fièvre, des frissons et des vomissements.

Des complications d'anémie, de poussées d'azotémie apparaissent quand la dose est maximale. Elles sont dues

à la néphrotoxicité du médicament qui favorise par ailleurs l'élimination du potassium, d'où hypocaliémie. En outre une baisse de la réserve alcaline est décelée qui sera corrigée par l'injection de soluté bicarbonaté.

Les critères d'arrêt du traitement sont assez mal définis. DROUHET et MARTIN (52), en médecine humaine, pensent qu'il faut tenir compte des points suivants :

— de la rapidité de stérilisation mycologique du liquide céphalo-rachidien. Plus celle-ci est lente, plus le traitement sera long.

— de la quantité de médicament injectée à chaque perfusion, car des doses faibles sont responsables de rechutes, et seules des doses égales ou supérieures à 0,75 mg/kg de poids sont susceptibles d'obtenir une stérilisation durable du liquide céphalo-rachidien.

— de la quantité totale d'amphotéricine B administrée, 1,50 - 2 g de ce médicament perfusé en 3 - 4 mois, permettent une amélioration de l'état général et sont suffisantes pour obtenir une guérison stable des méningites à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Après l'arrêt du traitement, des ponctions lombaires de contrôle seront faites tous les trois mois pendant un an au moins, permettant de dépister une rechute.

2) **5 Fluoro-Cytosine** (62) :

C'est une pyrymidine fluorée douée d'une activité antifongique marquée à l'égard de CANDIDA ALBICANS et CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

C'est une substance blanche cristalline, inodore, dont le point de fusion avec décomposition est d'environ 295 °C.

Son poids moléculaire est de 129,1 et sa solubilité dans l'eau faible.

Sa formule brute est C4 N3 OH4 F

(celle du 5 Fluoro uracile est C4 N2 O2 H3 F)

In vitro, la 5 Fluoro-cytosine à la concentration de 0,4 g/ml inhibe complètement la culture d'une souche de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

La voie d'administration orale :

— Chez la souris : inoculée par voie veineuse avec une suspension de culture de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS, la 5 Fluoro cytosine administrée par voie orale, a permis d'obtenir les résultats suivants :

33 à 68 % de souris traitées survécurent au terme de 21 jours de traitement,

35 % des hémocultures ont été négatives chez les souris traitées à raison de 500 mg/kg.

Toutefois, les cultures à partir du tissu cérébral sont demeurées positives chez tous les sujets traités à cette dose élevée.

En résumé, le 5 Fluoro cytosine permet une prolongation significative des souris infectées par CRYPTOCCOCUS NEOFORMANS.

En 1964, GRUNDBERG (in 83) fut le prmeier à étudier l'activité de la 5 Fluoro cytosine vis à vis de la CRYPTOCOCCOSE expérimentale de la souris.

— Chez l'Homme : la dose habituelle est très variable : 100 - 200 mg/kg de poids et par jour, jusqu'à une dose maximum quotidienne de 6 - 9 g.

La durée du traitement est fonction de la négativité des cultures à partir du liquide céphalo-rachidien; elle peut être de 3 semaines à plusieurs mois.

Les malades traités uniquement par la 5 Fluoro cytosine n'ont eu aucun phénomène d'intolérance; les cas d'hyperazotémie sont toujours survenus lorsque l'amphotéricine B était associée.

Ce médicament, non utilisé dans des cas de cryptococcose animale, semble plus intéressant que l'amphotéricine B, car il n'a pas d'effets secondaires marqués, son activité

antifongique semble notable, sa voie d'administration est bucale. Il faudrait cependant préciser sa toxicité dans les différentes espèces.

PROPHYLAXIE

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS est retrouvé près des colombiers et des aires aviaires. La maladie est sporadique. Cependant elle augmente de fréquence durant cette dernière décennie : est-ce dû aux meilleurs moyens diagnostic ou à l'utilisation des antibiotiques, comme certains auteurs l'affirment ?

En médecine vétérinaire elle est essentiellement primaire.

I. — MEDICALE

— Chimioprévention :

Elle n'est pas pas applicable à l'heure actuelle. Elle est inutile et illusoire. Elle ne peut être envisagée que comme complément de la prophylaxie sanitaire dans des étables où sévit une enzootie de mammite cryptococcique.

— Vaccination :

SONG et DEMOULIN (16) l'ont entreprise expérimentalement chez la souris. Une certaine immunité apparaît. Mais étant donné la rareté de la maladie, elle semble bien inutile en médecine vétérinaire et humaine.

II. — SANITAIRE

Elle est irréalisable en raison de la vie saprophytique du parasite très dispersé dans le milieu extérieur.

Dans les colombiers, les lieux publics fréquentés des oiseaux sauvages et domestiques, il faudrait au moins collecter et détruire les fientes, ce qui semble très difficile :

— soit en constituant des fumiers où la chaleur à cœur, par l'activité bactérienne, tue la levure,

— soit en alcalinisant le milieu qui devient dygénésique pour CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

L'alcalinisation des sols par le lait de chaux (28) (chaux vive à 10 % dans une solution aqueuse de lessive de soude à 2 %) constitue la méthode de destruction la plus efficace économiquement.

La prévention de la mammite cryptococcique est celle de toutes les mammites : propreté et désinfection des locaux, de tout le matériel de traite, des mains du personnel, des trayons. Dans les étables infectées, il est prudent d'explorer la cavité buccale des veaux à la mamelle et de rechercher des lésions mycosiques éventuelles et de les traiter.

L'hygiène des laits provenant de mammites crypococciques, débutantes ou sub-clinique, est importante pour l'homme.

Cependant, dans les différentes enzooties connues, aucun cas d'infection humaine n'a été constaté. Il suffit, pour éviter l'infection à point de départ digestif, de pasteuriser les laits.

DEUXIEME PARTIE :

TRAVAUX PERSONNELS
ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE
DANS LA REGION TOULOUSAINE

INTRODUCTION

Nous avons voulu rechercher la présence et la fréquence éventuelles de l'infestation cryptococcique des oiseaux de la région Toulousaine.

A cet effet, nous avons prélevé à TOULOUSE même, et dans sa banlieue rurale, des fientes de pigeons et d'autres oiseaux, entre le 23 octobre 1973 et le 5 février 1974.

MATERIEL ET METHODES

I. — LIEUX ET NATURE DES PRELEVEMENTS

	Fientes de pigeons				Fientes d'autres oiseaux			
	TOULOUSE		Milieu rural		TOULOUSE		Milieu rural	
LIBRES	Pl. Jeanne-d'Arc	1	LHERM	2	Pl. WILSON (étourneaux)	1	LHERM (poules)	1
	Monument aux Morts	2	POUCHARRAMET	2				
	Cathédrale St-Etienne	3	VENERQUE	2	Square DE GAULLE (moineaux, étourneaux)	2	LHERM (poules)	3
	Musée des Augustins	1	AURAGNE	2				
	Quartier St-Michel	1	AURAGNE	2	Canal du Midi (étourneaux)	2		
	Hôpital de la Grave	2	CLERMONT LEFORT	2				
	Quai de Garonne	2						
CLAUSTRES	Particuliers	13	Pigeonnier ENV	5	Oisellerie (canaris, bengalis, perruches, toucans)	4		
					Particuliers (tourterelles)	1		

55 prélèvements ont été effectués, dont 43 de pigeons. Tous ceux provenant de TOULOUSE, obtenus des pigeons et d'oiseaux libres ont été ramassés sur le sol ou sur les rebords des bâtiments. Ceux effectués chez les particuliers et en milieu rural ont été obtenus, soit des nids, soit de la planche d'envol des pigeons.

II. — MODE DE PRELEVEMENT

Nous avons prélevé chaque échantillon à l'aide d'une truelle de maçon flambée après chaque prélèvement et refroidie à l'air pendant quelques secondes. Chaque échantillon fut placé dans des boîtes de plastique à usage unique, puis introduits dans des gants de plastique, noués à leur extrémité afin d'éviter toute contamination secondaire au prélèvement et qui ont été jetés après usage.

Les échantillons qui n'ont pas été étudiés le jour même furent placés au laboratoire à la température ambiante de la pièce, c'est-à-dire 20 °C environ et utilisés le lendemain ou surlendemain.

III. — MISE EN CULTURE

Toutes les matières fécales obtenues ont été réduites en une poudre grossière si elles étaient prélevées sèches ou écrasées et triturées si elles étaient humides, dans un mortier stérile avec un pilon également stérile.

Un gramme environ de ce broyat fut prélevé et transféré dans des tubes à essai stériles de 18.

Nous avons ajouté 10 ml d'eau distillée, et après macération qu'un quart d'heure, nous avons écrasé avec une baguette stérile, l'échantillon délité de matière fécale; le tube fut rebouché et agité vigoureusement durant une minute.

On le laissa sédimenter 15 minutes. Passé ce délai, 4 ml du liquide surnageant furent pipetés et transférés dans un autre tube stérile et additionnés de 1 ml de solution an-

tibiotique (péniciline G 100 UI, streptomycine 2 mg/ml. Le mélange est alors étalé sur le milieu de culture à raison de 1 ml par boîte de Pétri. Nous effectuons une ou deux cultures par prélèvement.

Le milieu de culture retenu est le milieu GA préparé selon SCHONBORN, SCHUTZE et POHLER (68).

50 g de graines de niger (Guizotia abyssinica) sont broyées au moulin à café électrique et mis à cuire dans un litre d'eau de robinet pendant 30 minutes.

Le décocté obtenu est filtré sur gaze et additionné de :

— Glucose . . . . . 10 g
— Phosphate monopotassique . . . . . 1 g
— Créatinine . . . . . 1 g
— Bactoagar . . . . . 20 g
— Chloramphenicol . . . . . 1 g

On complète à un litre d'eau distillée et on répartit à raison de 20 ml dans des tubes à essai que l'on autoclave ensuite à 120 °C pendant 30 minutes.

Pour l'emploi, on liquéfie le milieu au bain marie bouillant, puis après refroidissement, vers 50 °C, on ajoute 20 gouttes de solution antibiotique, 5 gouttes de biphényl et on coule rapidement dans des boîtes de Pétri de 10 cm.

La solution de biphényl est à 100 mg de biphényl pur dans 1 ml d'alcool éthylique, cette solution est réchauffée légèrement juste avant le pipetage, car le biphényl a tendance à cristalliser.

Sur ce milieu le cryptocoque se développe en donnant des colonies rondes, bombées, lisses de couleur crème après 48 h à 37 °C.

Ces colonies prennent une teinte ocre au 5^{e} jour, puis marron foncé.

RESULTATS

		Pigeons		Autres oiseaux	
		Toulouse	Milieu rural	Toulouse	Milieu rural
Cultures stériles		3	7	5	1
Cultures relevant des colonies	en réseau	7	2	1	0
	non ocre	11	6	4	3
	Association des deux types précédents	4	2		
Cultures contenant des colonies ocres au bout de 5 jours		0	0	0	0

Aucune culture n'a révélé au bout de 5 jours ou plus des colonies rondes de couleur ocre ou marron.

Les colonies les plus fréquemment obtenues étaient de couleur blanche, rondes ou riziformes de la taille d'une tête d'épingle à celle d'un pois; colorées au bleu de méthylène, elles sont apparues constituées d'éléments ronds ou ovoïdes fréquemment bourgeonnants, uniques ou réunis, de taille évaluée au micromètre, égale à 1 à 4 microns.

La coloration à l'encre de Chine diluée au 1/3 n'a pas permis de montrer de capsule.

Nous avons repiqué ces cultures sur des milieux de SABOURAUD et urée indole :

— La recherche de l'uréase par ensemencement du milieu urée indole, après 12 h à 37 °C n'a jamais été positive.

— Les repiquages sur milieu de SABOURAUD ont fréquemment donné des cultures qui, observées, nous ont permis de voir le même type de cellules rondes ou ovoïdes, qui n'ont pas, elles-mêmes, décoloré le milieu urée indole après 12 h à 37 °C.

DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS

Toutes les tentatives d'isolement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS se sont révélées vaines.

Ces résultats négatifs tiennent-ils à une carence de la méthode ou à l'absence de cet organisme dans les différents échantillons ?

Les différents temps de protocole opératoire ont été suivis scrupuleusement :

— Stérilisation par la chaleur de la truelle entre chaque prélèvement qui est certes une méthode imparfaite, mais qui évite notablement les souillures;
— Manipulation auprès de la flamme du bec BUNSEN;
— Utilisation de deux boîtes de Pétri par prélèvement.

Quant à l'utilisation du milieu GA, il a déjà été testé avec succès par plusieurs auteurs, donc sa valeur ne peut être mise en doute.

Parmi les 43 prélèvement provenant de pigeons, nous pouvions attendre un résultat positif, connaissant ceux obtenus par les auteurs américains, positifs à 30 % environ.

Par contre ces résultats se révèlent normaux au vu de ceux obtenus par d'autres auteurs, Allemands surtout.

Nous ne pensons pas que la relativement faible variété des lieux de prélèvement a joué un rôle, car nous avons constaté que les pigeons passaient, durant la journée, d'un lieu à un autre. Cela ne semble pas vrai pour les bandes de pigeons en milieu rural.

Nous estimons donc que la non découverte de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans les différents échantillons est due à son absence dans les fientes que nous avons prélevées dans la région Toulousaine.

CONCLUSION

Dans la première partie de cet exposé, nous nous sommes attachés à étudier la maladie chez les animaux et à déterminer le rôle joué par les Oiseaux et particulièrement par le pigeon en tant que vecteur mécanique de la levure. Il peut intervenir dans quelques cas, mais ce n'est pas la règle.

Par ailleurs, CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS apparaît souvent comme une levure « opportuniste » en médecine humaine, se différenciant, dans l'état actuel de nos connaissances, de la maladie animale essentiellement primaire.

Dans la seconde partie, nous avons recherché CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans les fientes des différents oiseaux de la région Toulousaine. Aucun échantillon ne le révéla. Ce résultat est anormal connaissant ceux obtenus par certains auteurs, mais il concorde parfaitement avec ceux d'autres auteurs, Allemands surtout.

Les risques d'infection, dus à l'infestation cryptococcique aviaire, semblent donc réduits pour les populations animales et humaines de la région Toulousaine.

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
Rapporteur
Professeur BRIZARD

Vu : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire
Professeur R. LAUTIE

Vu : Le Président de la Thèse
Professeur LARROUY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 24 mai 1974
Le Président de l'Université
Paul-Sabatier
L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

1. ABERFELD DC. — Cryptococcal méningoencephalitis prensenting hemiplegia of sudden onset. J.A.M.A., 1967, 202, 1150.
2. AJELLO L. — Occurence of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in soils. Amer. J. Hyg., 1958, 67, 72.
3. BACH A., FABRICANT C. — CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS : ecology and immunology. Antoine Leewenkock, 1969, 35, suppl. E 35.
4. BAKER RD., SALFELDER K. — The pathologic anatomy of mycoses Berlin Heidelberg, New-York, Ed Springer Verlag, 1971, p. 383.
5. BARRON C. — CRYPTOCOCCOSIS in animal. Jof. Vet. Med. Ass., 1955, 2, 933, p. 215.
6. BENNET JE. — Evaluation of a skin : test for cryptoccosis. Amer. Rev. Res. Dis., 1965, 91, 616.
7. BODENHOFF J. — Chronic cryptococcosis in the mouse. Acta. Path. Microbiol Scandinav., 1969, 75, 169.
8. BOHM KH., ABDALLAH, TAUTWEIN G. — Demonstration of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in pigeon droppings. Zentralbl Veterinarmed Reihe, 1967, 14 (5), 419-431.
9. BOLLIGER A., FINCHK ES. — The prevalence of cryptococcosis in the koala. Med. J. Aust., 1962, 1, 547.
10. BRUKS B. — Cryptococcosis of the central nervous system. Pol. Tyg. Lek., 1970, 25, 225.
11. BUMER GS. — CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS : I - non encapsulated mutants. II - Phacocytosis by human leucocytes. J. Bact, 1967, 94, 1475, 1480.
12. BULMER GS. — CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS : III - Inhibition of phagocytosis. J. Bact, 1968, 95, 5.
13. BUSCHKE A. — Ueber eine durch Coccidien hervorgerufene krankheit des Menschen. Deutsche Med. Wchseh, 1895, 21, 3, 14.
14. BUSSE O. — Ueber parasitare Zelleinschlüsse und irhre Züchtung. Zentralbl et Bakt, 1894, 16, 175-180.
15. CARTER HS., YOUNG JL. — Note on the isolation of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS from a sample of milk. J. Path Bact, 1950, 62 281.

16. DEMOULIN - BRAHY L. — La capsule de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Ann. Soc. Bel. Méd. Trop., 1964, 44, 641.

17. DESTOMBES JL., NAZIMOFF O. — Diagnostic histologique du CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS imprégnation argentique et mucicarmin. Bull. Soc. Path. Exot., 1962, 55, 1044.

18. DOLAN CT., WOODWARD MR. — Identification of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS species in the diagnostic laboratory. Am. J. Clin. Path., 1971, 55, 591.

19. DOVY AY. — The ultrastructure of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Sabouraudia J. Inst. Soc. Hum. Mycol., 1971.

20. DROUHET E., SEGRETAIN G., MARIAT F. — Diagnostic de laboratoire des mycoses. Améliorations récentes des méthodes de diagnostic mycologique et immunologique. Rev. Prat., 1968, 19, 2863.

21. DROUHET E., SEGRETAIN G. — Biologie et pouvoir pathogène de TORULOPSIS NEOFORMANS. Rev. Path. Comp. Hyg. Gen., 1950, 614, 37.

22. DROUHET E., SEGRETAIN G. — Action réciproque entre phagocytes et TORULOPSIS NEOFORMANS. Bull. Scien. Roumain, 1952, 1, 40.

23. DROUHET E., SEGRETAIN G. — Polyoside capsulaire d'un champignon pathogène : relation avec la virulence. Ann. de l'Institut Pasteur, 1950, 2, 891-900.

24. DROUHET E. — Action de l'amphotéricine B dans les mycoses profondes. Sem. Hop. Paris, 1961, 37, 101.

25. EDWARDS MR., GORDON MA., LAPA EW. — Micromorphology of CRYPTOCOCCUS NEORFORMANS. J. Bact., 1967, 94, 766.

26. EMMONS CW. — Isolation of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS from soils. J. Bact., 1951, 62, 685.

27. EMMONS CW. — Saprophytic sources of CRYPTOCOCCUS NEO FORMANS associated with pigeons. Amer. J. Hyg., 1955, 62, 227-232.

28. EUZEBY J. — Cours de mycologie médicale comparée. Vigot Fr. Ed., 1969, 97, 275.

29. EVENSON AE., LAM JW. — Slime flux of mesquite as a new sa prophytic source. J. Bact., 1964, 88, 542.

30. FREY D., DURIE EB. — Isolement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS du sol de Nouvelle-Guinée et des fientes des pigeons de Sidney. Méd. J. Aust., 1964, 51, 947.

31. FROTHINGHAM L. — A tumor-like lesion in the lung of a horse caused by a blastomyces (TORULA). Jour. Med. Res., 1902, 8, 31,43.

32. GALLI G. — Osservazioni e studi sur casi di mastite microtica bovina. Veterinaria Italiana, 1954, 5, 587-604.

33. GOTTI A., BRAZZOLA F. — Sopra in caso di blastomicosi nassali in una cavalla. Med. R. Acad. Sa. Ist. Bologne, 1897, 6, 721-754.

34. GRASSET AF. — La cryptococcose du système nerveux central. Thèse Méd. Paris, 1955, n° 920.

35. HOLZWORTH. — Cryptococcosis in a cat. Cornell. Vet., 1952, 42, 12-15.

36. HOLZWORTH, DAVID, COFFIN. — Cryptococcosis in a cat a second case. Cornell. Vet., 1953, 43, 546-550.

37. ISHAQ, CHOUNDRY M., GLENN S. — An evaluation of various enviromental factors affecting the propagation of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Mycopathol. Mycol. Appl., 1968.

38. KAPICA L. — Improvment in laboratory diagnosis of pulmonary cryptococcosis. Canad. Med. Ass. J., 1969, 101, 47.

39. KAO CJ., SCHWARTZ J. — Isolation of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS from pigeons nests. Am. J. Clin. Path., 1965, 27, 462.

40. KAUFMAN L. — Value and interpretation of serological tests for the diagnosis of cryptococcosis. App. L. Micribiol., 1968, 16, 1907.

41. KCHOUK M., BEN RACHID, CHADLI. — Première souche tunisienne de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS isolée de fientes de pigeons. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis.

42. KIKUCHI K. — User einen Fall von Blastomykose beim Pferd. Jour. Jap. Soc. Vet. Sci., 1932, 2, 4, 5.

43. KRASNIKOV EY., SHCHOLOKOVA P., NAHORNA SS. — Yeast and yeast like fungi in epiphetic microflora of some plants. Microbiol. ZH., 1971.

44. LEVINE S. — Experimental cryptococcosis. Amer. J. Path., 1957, 33, 385.

45. LEVINE S., ZIMMERMAN HM. — The reaction of the nervous systel to cryptococcal infection : an experimental study with light and electron microscopy. Res. Publ. Ass. Res. New. Ment. Dis., 1968, 44, 393.

46. LITTMAN ML., SCHNEIERSON SS. — CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in pigeon excreta in New-York City. Amer. J. Hyg., 1959, 69, 49.

47. LITTMAN ML., TSUBURA E. — Effect of degree of encapsulation upon virulence of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1959.

48. LODDER J. — The yeasts a taxonomic study. Lodder editor North Holland.

49. LOURIA DB., FALLON N., BROWNE HG : The influence of cortisone on experimental fungus infection of mice. S. Clin. Invest., 1969, 39, 1435.

50. LURIE H., SHADOMY W., STILL. — An electron microscopic study of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS (Cowardstrain). Sabouraudia J. Inst. Soc. Human. Anim. Mycol., 1971.

51. MANTOVANI, MORGANTI. — Démonstration de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS dans les habitats d'oiseaux et de chauve souris dans Emilia Ronagna. Review of medical and veterinary mycology.

52. MARTIN L., DROUHET E. — Méningites à cryptocoques. Gazette Médicale de France, 1968, 7, 1439-1452.

53. MIRA LLINAS, RODRIGO ANZOLA, ALBERTO MARTINEZ. — Isolement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS à partir de matériels contaminés avec du fumier de pigeons à Medellin, Colombie. Illust., 1968, 18 (1), 33-40.

54. MUCHMORE HG., RHOADES ER., NIXGE. — Occurence of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in the environnental of three geographically associated cases of cryptococcal meningitis. New Engl. J. Med., 1963, 268, 1112.

55. NEWBERRY WM. Jr. — Epidemiologic study of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Ann. Int. Med., 1967, 67, 724.

56. PENA CE. — Deep mycotic infections in COLOMBIA A. clinical pathologic study of 162 cases. Amer. S. Clin. Path., 1967, 47, 505.

57. PERRUCHIO P. — Le torulume bronchectasiant. Press. Med., 1959, 67, 387.

58. POUNDEN WD., ALBERSON JM., JAEGER RF. — A severe mastitis problem associated with CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in a large herd. Amer. J. Vet. Res., 1952, 13, 121-128.

59. PRESTD D. — The passive cutaneous anaphylaxis test in cryptococcocosis. Myco Pathologia, 1968, 35, 1.

60. PROCKNOW JJ. — Cryptococcal hepatitis presenting as a surgical emergency First isolation of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS from point source on Chicago. J.A.M.A., 1965, 191, 269.

61. RANDHAWA HS., CLAYTON YM., RIDDEL RW. — Nature, 1965, 208, 801.

62. RECCO P. — La Cryptococcose. Thèse Médecine Toulouse, 72-73, 1401.

63. SALFELDER K., BAKER RD. — The pathologic anatomy of mycoses. Berlin Heidelberg New-York Ed. Springer Verlag, 1971, p. 383.

64. SALVIN SB., SMITH RF. — An antigen for detection of hypersensitivity by CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1961, 108, 498.

65. SAN FELICE F. — Contributo alla morfologia dei blastomiceti che si soiluppano nei succhi di alouni frutti. Annali Dell Instituto Igiene Specimentale, 1894, 4, 463-495.

66. SAUNDERS LZ. — Systemic fungus infections in animals : A review. Cornell. Vet., 1948, 38, 213-238.

67. SCHELLNER. — Uner eine beim Pferde durch Hefezellen verursachte geschwuhst in der Nasenhöhle und deren Nebenhöhlen Ztschr Veterinark, 1935, 47, 111-116.

68. SCHONBORN C., SCHUTZE B., POHLER H. — Sprosspilze in kot von Zovögeln, freilebenden einheimischen Vögeln und verwilderten Tauben. Mykosen, 1969, 8, 486.

69. SEGRETAIN G., VERGE J., DRIEUX H., MAURIAT F., PARAF A., LABIE C., THERON B. — Mammite à CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS Bull. Acad. Vét., 1956, 29, 33-40.

70. SETHI KK., SCHWARTZ J. — Experimental ocular cryptococcis in pigeons. Amer. J. Ophtalm, 62, 111, 96-98.

71. SETHI KK., RANDHAWA HS. — Survival of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in the gastrointestinal tract of pigeons following ingestions of the organisms. J. Infect. Dis., 1968.

72. SIEBOLD, ROBERTS, JORDAN. — Cryptococcis in a dog. Jour. Am. Med. Ass., 1953, 122, 213-215.

73. SIMON J., NICHOLS RE., MORSE EV. — An outbreak of bovine cryptococcis. Jour. Amer. Vet. Med. Ass., 1953, 122, 31-35.

74. SKINNER GE. — Generic name for imperfect yeasts CRYPTOCOCCUS TORULOPSIS. Amer. Middiand Nat., 1950, 43, 242-250.

75. STAIB F., SEELIGER HD. — Un nouveau milieu sélectif pour l'isolement de CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS des matières fécales et du sol. An. Inst. Pasteur, 1966, 110, 792.

76. STAIB F. — Saprophytic life of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Ann. Soc. Belge Med. Trop., 1964, 44, 611.

77. STODDARD JL., CUTTLER EC. — Torula infection in man. Mon. Rockfeller Inst. Med. Res., 1916, 6, 1-98.

78. SYMMERS WSC. — CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in bird droppings. Lancet, 1967, 1, 159.

79. TAKOS MJ., ELTON NW. — Spontaneous cryptococcis of marmoset monkey in Panama. Arch. Path., 1953, 55, 403-407.

80. TAYLOR. — Occurence of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in Thailland. Amer. Jepid. Illust., 1968, 87, 318.

81. THERY A. — Cryptococcose ganglionnaire et cutanée du chat. Rec. Méd. Vét., janvier 69.

82. TRUJILLO B., BORREL AJ., AGERC. — Rev. Méd. Vét., 1955, 18, 586.

83. UTZ JB. — 5 fluorocytosine in human cryptococcis. Antimicrob Agents Chemoter, 1968, 8, 344.

84. VUILLEMIN P. — Les Blastomycètes pathogènes. Rev. Gén. Sc., 1901, 12, 732-751.

85. VAN HUNDEN NM, VIDAL L., BUCKLEY HRB. — Utilisation of nitrogen compounds by CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS and other yeasts. Ann. Soc. Bel. Med. Trop. Mycol., 1964, 619, 637.

86. WALTER JE., YEE RD. — Factors that determine the growth in avian excreta. J. Bact., 1956.

87. WALTER JE. — Serodiagnosis of clinical cryptococcis. Amer. Rev. Resp. Dis., 1968, 97, 275.

88. WALTER JE., ATCHISON RW. — Epidemiological and immunological studies of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. J. Bact., 1966, 92, 82.

89. WALTER JE., JINK E., COFFEE E. — Distribution of the serotypes of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Amer. J. Epid., 1968, 7, 167-172.

90. WEIDMAN FD., RATCLIFFE HL. — Extensive generalized torulosis in a chetah or hunting leopard. Arch. Path., 1934, 18, 362-369.

91. WEILAND, EMILIE. — Investigations on the behavior of CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS in soil. Long term investigations on the survival time of under external environnental conditions. Mykosen, 13 (7), 335-360.